

Variabilité pharmacocinétique des anti-cancéreux : Application à la vinorelbine et au lapatinib

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de
l'Université RENÉ DESCARTES-Paris V par

Keyvan REZAI GHARAHBOLAGH

soutenue le 23 janvier 2012

Jury :

Monsieur Dominique Bellet (Président de Thèse)

Madame Sandrine Faivre (Rapporteur)

Monsieur Pierre Teillac (Rapporteur)

Monsieur François Lokiec (Examineur)

Monsieur Saïk urien (Directeur de Thèse)

Sommaire

REMERCIEMENTS	4
ABREVIATIONS	6
INTRODUCTION	8
A- Revue Bibliographique	13
I- LA VINORELBINE (NAVELBINE)	14
I.1- HISTORIQUE	14
I.2- Propriétés physico-chimiques.....	15
I.3- Mécanisme d'action.....	18
I.4- Tolérance au cours des études cliniques	20
I.5- Pharmacocinétique.....	21
I.6- Pharmacocinétique de population	24
II- LE LAPATINIB (TYVERB®)	25
II.1- HISTORIQUE	25
II.2- Propriétés physico-chimiques.....	27
II.3- Mécanisme d'action.....	28
II.4- Tolérance au cours des études cliniques	29
II.5- Pharmacocinétique.....	29
II.6- Pharmacocinétique de population	33
II.7- Interactions médicamenteuses.....	34
B- PROTOCOLE CLINIQUE.....	36
I- INTRODUCTION	37
II- MATÉRIELS ET MÉTHODES	37
II.1- Patientes	37
II.2- Schéma de l'étude.....	38
II.3- Étude pharmacocinétique.....	38
III- RÉSULTATS	65
III.1- Patientes	65

III.2- Dosage sanguin de la vinorelbine	66
III.3- Dosage plasmatique du lapatinib	71
III.4- Analyse Pharmacocinétique	76
III.5- Analyse Pharmacodynamique	99
IV- DISCUSSION	132
V- CONCLUSIONS	138
C- ANNEXES	141
RÉFÉRENCES	184
RÉSUMÉ	191

REMERCIEMENTS

Je remercie tous les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail et ce malgré leur emploi du temps extrêmement chargé.

Je remercie le Professeur Dominique Bellet d'en avoir accepté la présidence.

Je remercie tout particulièrement le Professeur Sandrine Faivre et le Professeur Pierre Teillac d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail.

Je souhaite exprimer toute ma profonde reconnaissance et sympathie au Dr Saïk Urien qui a dirigé ce travail, et qui au fil de ces trois années m'a transmis tout son savoir sans aucune retenue et a su me réserver un soutien permanent avec beaucoup de bonne humeur.

Je souhaite remercier du fond de mon cœur celui que je considère comme mon mentor, mon père spirituel et mon CHEF très très Vénéré, le Professeur François Lokiec de m'avoir fait confiance et de m'avoir laissé une chance d'évoluer dans ce milieu. Sans vous je ne serais pas là où je suis actuellement. Je vous remercie également d'avoir accepté d'être mon examinateur.

Je remercie tous ceux qui m'ont apporté leur aide et leur soutien dans ce travail :

- Mme Odile Nemec pour son excellent travail de bibliographie.

- Mes collègues ; Joëlle, Patricia, Edelmira, Sophie, Marie-Françoise, Fanny (experte en chocolat), Sylvère (As de la mise en page), Gaëlle et Gloria pour leur amitié, leur aide et leur soutien.
- Olivier (beau gosse) pour son soutien et ses blagues du lundi !!!
- Une pensée très particulière à Maxime (Maxoo) qui me manque beaucoup.
- A Aïda (la Sœurette) pour sa bonne humeur et son soutien.
- A Marta et Céline d'UNICANCER pour leur soutien logistique très performant.

A mes parents, qui m'ont appris le respect de la vie et des autres et qui ont toujours été présents à mes côtés.

A mes quatre sœurs (baji); Jilla, Soussan, Roya et Hélène qui sont toujours là pour remonter le moral du petit dernier. Il n'y a pas de meilleur soutien que vous à mes côtés. Dans les moments difficiles il suffit d'un petit mot de votre part pour que ça reparte comme le Mars !!!!

A tous mes beau-frères ; Esmail, Ahmad, Mazdak et Farid.

A tous mes neveux et nièces ; Sara, Julie, Rahim, Melody, Kevin, Elyn, Alexandra et Chloé.

A Papy et Mamy.

A ma belle mère adorée et à Riri.

A Sylvie, Pierre, et la petite Camille.

A Ella et Fatiha.

A Vincent et Pedram.

Et enfin, the last but not the least, à ma Laurence sans qui tout ceci n'aurait aucun sens. Tout simplement merci pour être à mes côtés dans la vie.

ABBREVIATIONS

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination.

ALAT : ALanine Amino Transférase.

ASAT : ASpartate Amino Transférase.

ASC : Aire Sous la Courbe des concentrations.

AUC: Area Under the Curve.

BSA: Body Surface Area.

CL: Clairance.

CLHP : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

Cm : centimètre.

C_{max} : Concentration maximale.

CQ: Contrôle Qualité

CYP3A4 : Cytochrome P450 3A4.

DV : Dependent Variable = concentrations mesurées.

EI : étalon interne.

Ers : erreur relative standard.

eV : électron volt.

GCSF : Granulocytes Colony Stimulating Factor

GSK : Glaxo Smith Kline.

hr : heure.

IBW : Ideal Body Weight.

iv : intra veineuse.

Ka: constante d'absorption

kg : Kilogramme.

L : Litre.

LBM : Lean Body Mass.

MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase.

mg: milligramme.

min : minutes.

mL : millilitre.

NPDE : Normalised prediction distribution errors.

PD : Pharmacodynamics et / ou pharmacodynamie.

PK : Pharmacokinetics et / ou Pharmacocinétique.

PK-pop : Pharmacocinétique de Population.

PNN: Poly Nucléaires Neutrophiles.

PO: per os

TK: Tyrosine Kinase.

tpm: tours par minute.

TVP: Typical Value Parameter.

UPLC-MS/MS: Ultra Performance Liquid Chromatography with tandem mass spectrometry.

VA : Vinca Alcaloïdes.

Vd : Volume de distribution.

VII : Variabilités Interindividuelles.

VPC : Visual predictive checks.

μL : microlitre.

INTRODUCTION

En cancérologie, la chimiothérapie, au même titre que la chirurgie et la radiothérapie, demeure l'un des principaux moyens utilisés par les cliniciens pour le traitement des tumeurs. Malgré une adaptation individuelle de la dose à la surface corporelle, la réponse au traitement varie beaucoup d'un patient à l'autre. Certains patients sont considérés comme « mauvais répondeurs » alors que d'autres présentent des toxicités inacceptables. L'index thérapeutique très étroit de ces médicaments cytotoxiques nécessite une optimisation des doses utilisées et une diminution des variabilités interindividuelles tant du point de vue pharmacocinétique « PK » (ce que l'organisme fait au médicament, Absorption, Distribution, Métabolisme et Élimination « ADME ») que du point de vue pharmacodynamique « PD » (ce que le médicament fait à l'organisme). Cette optimisation des doses et des schémas d'administration pour les médicaments anticancéreux est souhaitable non seulement pour le développement des nouveaux médicaments mais aussi pour les médicaments déjà utilisés en clinique.

La contribution de la variabilité pharmacocinétique et/ou pharmacodynamique à la variabilité de la réponse clinique aux traitements a clairement été démontrée [1]; [2]. Cette variabilité interindividuelle peut causer des effets non prédictifs en termes de réponse et/ou toxicité. La recherche de l'origine des variabilités devient une approche rationnelle pour l'optimisation des doses de cytotoxiques [3] et permet de mesurer leur l'influence. En effet, la variabilité interindividuelle des paramètres pharmacocinétiques peut s'expliquer par la variabilité de certains éléments biologiques, démographiques ou physiopathologiques propres à chaque patient. Ces éléments sont appelés covariables (ce sont des variables qui influent sur d'autres variables) Figure 1. Ces variables doivent souvent être relevées pour leur rôle connu

ou supposé dans le phénomène étudié [4]. Les individus ont une capacité très variable à métaboliser et à éliminer (exposition systémique) les médicaments, qui provient d'une combinaison de variables physiologiques intrinsèques (génétiques) caractéristiques et de facteurs environnementaux Figure 1. Cette variabilité devient très importante vis-à-vis des médicaments anticancéreux [5] notamment en cas de polychimiothérapie avec des médicaments qui sont métabolisés par la même voie métabolique. En effet, l'un des principaux mécanismes impliqué dans l'élimination de la plupart des agents anticancéreux classiques, est le métabolisme par la famille enzymatique des cytochromes P450 3A4, et par l'excrétion biliaire et/ou urinaire via les transporteurs ATP-Binding cassette comme ABCB1 [6]. De nombreuses études ont montré les variations inter et/ou intra patient importantes dans l'activité de ces enzymes ce qui pourrait influencer les différentes voies d'élimination des médicaments anticancéreux [7].

Nous savons que l'intensité de l'effet (efficacité et toxicité) est liée au moins en partie à l'exposition au médicament (concentrations sanguines et/ou plasmatiques), elle même dépendante du comportement pharmacocinétique de la molécule et plus particulièrement de son élimination [8]. Par conséquent, adapter la dose à la clairance d'élimination (CL) permet de mieux maîtriser le niveau d'exposition au médicament et de diminuer les variabilités interindividuelles.

A l'heure actuelle, de plus en plus d'initiatives sont mises en avant afin d'explorer la synergie d'association de la chimiothérapie classique avec les thérapies ciblées. D'un côté, la chimiothérapie classique utilise des agents cytotoxiques détruisant les cellules tumorales mais aussi certaines cellules normales qui se multiplient rapidement dans l'organisme (cellules sanguines, spermatozoïdes, épithéliums cutané, respiratoire et digestif), entraînant de nombreux effets secondaires.

De l'autre côté les "thérapies ciblées" sont des thérapeutiques dirigées contre des cibles moléculaires présentes et supposées jouer un rôle dans la transformation néoplasique de la cellule cancéreuse. C'est un traitement à l'aide de médicaments qui, selon leur cible, visent à freiner ou à bloquer la croissance de la cellule cancéreuse, en l'affamant, en provoquant sa mort, en dirigeant le système immunitaire contre elle ou en l'incitant à redevenir normale. Ces molécules, qu'elles soient des thérapies conventionnelles ou ciblées sont métabolisées et éliminées par les reins ou par le système hépatique. Ceci pourrait avoir comme conséquence une interaction PK entre ces molécules et une augmentation des variabilités interindividuelles.

En effet, les interactions médicamenteuses peuvent être le résultat d'une interaction PK et/ou PD. Les interactions PK impliquent un médicament ou une molécule qui altère les propriétés PK (ADME) d'un autre médicament. Cette interaction PK s'observe lorsque deux médicaments utilisent la même voie métabolique et ceci est fréquent en cancérologie car la plupart des protocoles de chimiothérapies associent plusieurs molécules.

La connaissance du mécanisme par lequel une interaction médicamenteuse survient est souvent très utile en clinique. La variabilité interindividuelle est un facteur important qui influence ces interactions. Prendre en compte ces deux facteurs peut influencer la réponse clinique et la toxicité d'un agent anticancéreux [9].

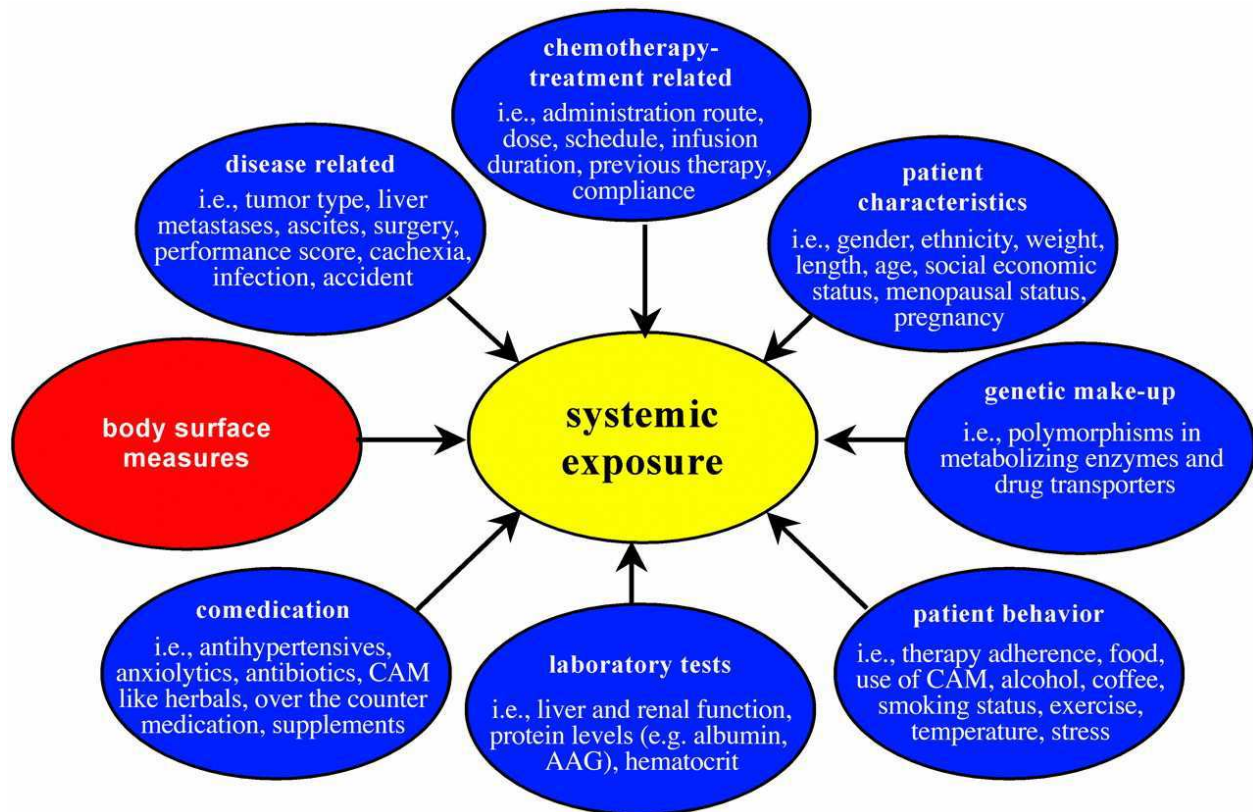
Une augmentation de la vigilance concernant ces deux facteurs permettrait aux cliniciens de diminuer les risques pour le patient.

Les connaissances actuelles concernant les mécanismes d'action de la vinorelbine (chimiothérapie classique) et du lapatinib (chimiothérapie ciblée) ont conduit les

cliniciens à mettre en place un protocole clinique de phase I d'association de ces deux molécules chez les patients présentant un cancer du sein localement avancé ou métastatique surexprimant HER2.

Durant ce travail, nous nous sommes intéressés à l'analyse PK et PD de ces deux molécules afin de déterminer l'existence ou non d'une interaction PK ainsi que les facteurs de variabilité pouvant intervenir sur les caractéristiques PK et/ou PD de chacune de ces deux molécules.

La première partie de ce travail est consacrée à une revue bibliographique concernant la PK et le métabolisme de ces deux molécules et dans une seconde partie nous nous intéresserons à la méthodologie et aux résultats obtenus durant ce protocole clinique.



Ron H.J. Mathijssen The Oncologist 2007; 12:913-923

Figure 1 Différents facteurs de variabilités interindividuelles

A- Revue Bibliographique

I- LA VINORELBINE (NAVELBINE)

I.1-HISTORIQUE

Les alcaloïdes sont un groupe chimique hétérogène, d'origine naturelle, renfermant un ou plusieurs atomes d'azote. Leur nom provient de l'arabe « al kali » et du grec « eidov » (forme) due à leur caractère basique, alcalin.

Historiquement, la découverte des *Catharantus* alcaloïdes trouve ses origines dans la médecine naturelle [10]. En effet, les extraits de feuilles d'une plante tropicale, *Catharantus roseus*, avaient la réputation de pouvoir traiter le diabète. Cette plante, également connue sous le nom de Pervenche de Madagascar, a été appelée *Vinca rosea* jusqu'à ce que G Don décrive le genre *Catharantus* en 1838 [11].

Les genres *Vinca* et *Catharantus* sont voisins et tous deux appartiennent à la famille des Apocynacées. Les vinca-alcaloïdes (VA) dérivés alcaloïdes de *Vinca rosea* ou *Catharantus roseus* (Figure 2), depuis la découverte (durant les années 1960-1970) de leur activité anti leucémique expérimentale [12], ont été à l'origine d'un travail de recherche qui a conduit à la caractérisation puis à l'utilisation clinique de la vincristine, de la vinblastine puis à partir de 1975 de la vindésine [13] agent dont l'apport, comparé aux autres vinca-alcaloïdes en terme d'activité ou d'effets secondaires, reste incertain. Les mécanismes d'action, la PK, le métabolisme et les mécanismes de résistance de ces molécules ont depuis été beaucoup étudiés et approfondis.

Les différences de structure entre ces trois molécules portent sur la partie vindoline. Grâce à une modification de la réaction de Polonovski, il a été possible d'obtenir par hémisynthèse l'anhydro-vinblastine et ses nor-5'-dérivés [14]. La modification du

noyau catharanthine (perte d'un atome de carbone) et la condensation du celui-ci avec la vindoline a abouti à la synthèse de la vinorelbine.

Les formulations iv et po de la vinorelbine en association avec différents agents cytotoxiques, ont été évaluées pour le traitement du cancer du sein métastatique [15]. La vinorelbine ou la nor-5'-anhydrovinblastine est commercialisée depuis 1989 sous le nom de «Navelbine® » par les laboratoires Pierre Fabre dans l'indication cancer bronchique non à petites cellules et depuis 2001 dans le cancer du sein métastatique en monochimiothérapie et depuis 2005 en polychimiothérapie.

Le dernier né de cette famille est la vinflunine qui a été découverte en 1996.

Issue de l'association de 2 molécules naturelles extraites de la Pervenche de Madagascar, la Vinflunine est une molécule sur laquelle on a greffé deux atomes de fluor à la position 20' [16]. La vinflunine a obtenu son AMM européenne sous le nom de Javlor* avec pour indication thérapeutique le traitement des patients adultes atteints de carcinome urothélial à cellules transitionnelles avancé ou métastatique après échec d'un traitement préalable à base de platine.

I.2-Propriétés physico-chimiques

Le poids moléculaire de la vinorelbine sans les deux acides tartriques est de 779 g/mol et pour la forme ditartrique de 1079 g/mol (Figure 3). La molécule est soluble dans l'eau et l'alcool. Elle est instable à la lumière et à l'humidité et doit être conservée à +4°C.

La Navelbine® se présente sous la forme injectable d'une solution saline de ditartrate de vinorelbine à 10 mg/mL ou de capsules molles de 20 et 30 mg pour la voie orale.

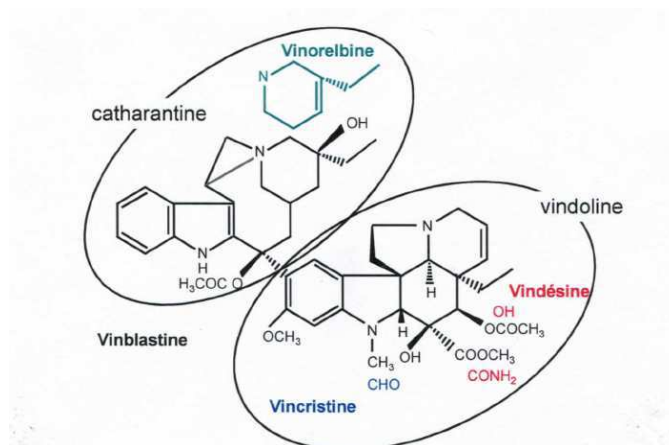
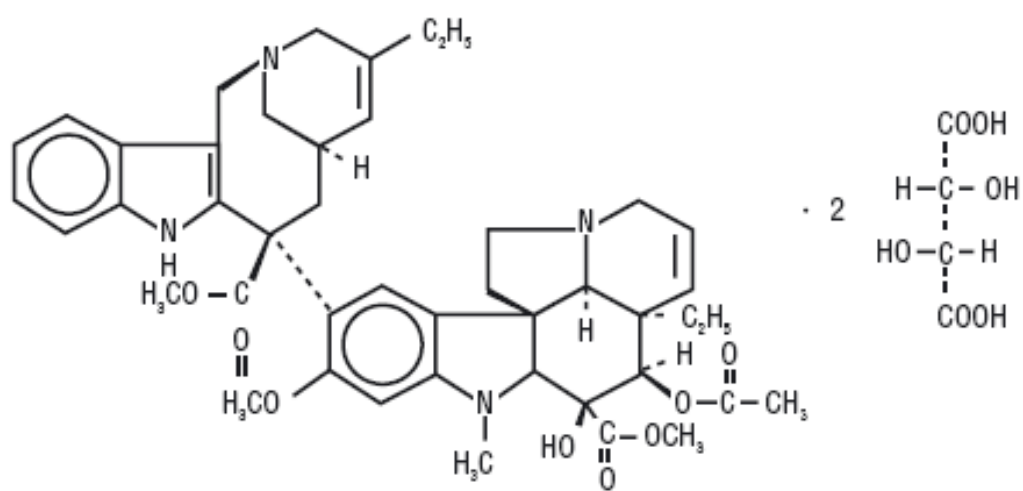
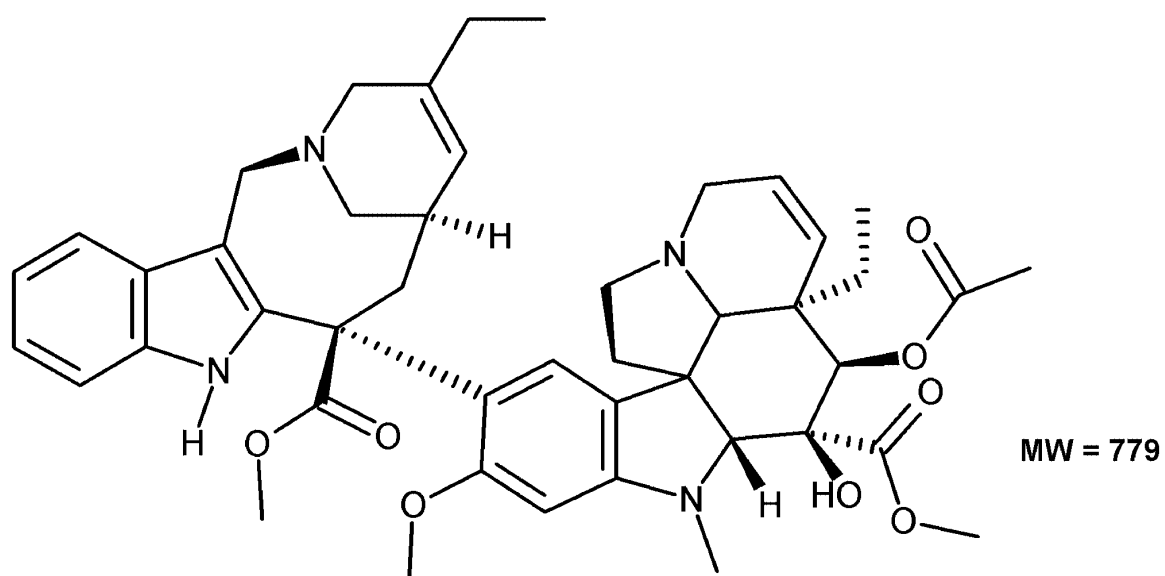


Figure 2 Alcaloïdes de *Vinca rosea*



Catharantus roseus



Ditartrate de vinorelbine

Figure 3

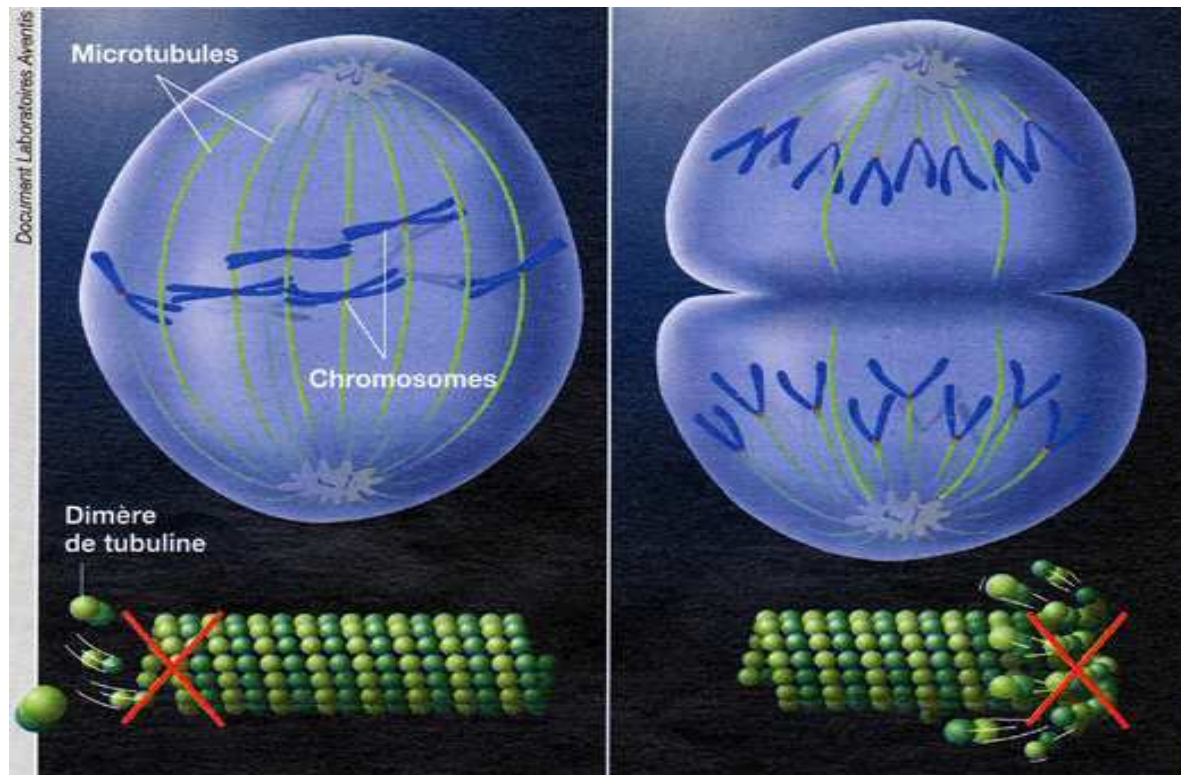
I.3-Mécanisme d'action

Les VA agissent essentiellement par leur liaison à la tubuline et ses conséquences sur la formation et la dissociation des microtubules. Les microtubules sont impliqués dans la structure du cytosquelette, la migration des chromosomes lors de la mitose, et le transport neuronal. La tubuline, plus petite unité des microtubules, est une protéine ubiquitaire qui possède deux sites de liaison pour les VA. L'action de la vinorelbine est phase-spécifique ; avec des concentrations cytotoxiques ($> 12 \text{ nM}$), on observe un blocage en G2-M, suivi d'une mort cellulaire pendant l'interphase ou la mitose suivante.

Les VA à faible concentration de $0,1 \text{ } \mu\text{mole/L}$, empêchent la polymérisation des microtubules bloquant ainsi les cellules au stade métaphase (Figure 4). Parmi toutes les VA, la vinorelbine, aux plus fortes concentrations, induit un blocage des cellules au stade prophase. Elle est aussi active sur les microtubules mitotiques que les autres VA mais moins active sur les microtubules axonaux, ce qui explique sa neurotoxicité moins élevée [17, 18] En effet, la vinorelbine est douée d'une faible aptitude spiralisante, ce qui lui confère une faible neurotoxicité et un index thérapeutique accru.

En métaphase, la polymérisation des dimères de tubuline entraîne la formation et la croissance des microtubules.

✗ inhibition par les alcaloïdes de la pervenche



Lors de l'anaphase, les chromosomes se séparent. Les microtubules raccourcissent par dépolymérisation.

✗ inhibition par les taxanes

Figure 4

I.4-Tolérance au cours des études cliniques

En monochimiothérapie, cette tolérance a été particulièrement étudiée par Besenval et al.[19] lors de l'analyse de 141 patients et 1556 administrations de vinorelbine. D'après cette étude les toxicités majeures sont :

1.4.1- Toxicité hématologique

La toxicité dose limitante est la leuco-neutropénie. Une neutropénie significative (> grade 2) est observée dans 19% des cycles. Il s'agit d'une toxicité réversible sans aucun effet cumulatif. Cette toxicité est plus fréquente en cas de traitement myélosuppresseur antérieur, ce qui nécessite une diminution de la dose-intensité d'approximativement de 25%.

L'anémie et la thrombopénie sont rarement observées (sauf chez les patients prétraités par chimiothérapie et/ou radiothérapie).

1.4.2- Toxicités non hématologiques

- La neurotoxicité ; un seul cas de toxicité de grade 4 a été observée, 10 cas de neurotoxicité de grade 3 avec diminution de la force musculaire chez 9 patients et une dysesthésie ont été observés notamment après un traitement prolongé (3 à 6 mois) et une toxicité de grade 1 avec une diminution du réflexe ostéotendineux, a été observée dans 20 à 30% des cas. et quelques rares paresthésies.
- Assez bonne tolérance digestive avec 3% de nausées et vomissements.
- Alopecie significative, rare, modérée, mais toujours réversible a été observée chez 6% des patients.

Les toxicités observées pour la forme orale sont : nausées de grade 1-2 (70,5 % des patients), vomissements grade 1-2 (52,9 % des patients), la constipation d'origine neurologique, survenue de diarrhées (41,9 % des patients pour celles de grade 1 et 2), fatigue, fièvre, arthralgies notamment au niveau des mâchoires, douleur au niveau de la tumeur, myalgies, élévation transitoire des enzymes hépatiques sans symptômes cliniques [20].

En association, la vinorelbine peut être utilisée avec des agents peu myélotoxiques sans majoration significative de l'incidence de la sévérité des neutropénies.

La toxicité des agents peu myélotoxiques associés n'est pas influencée par la vinorelbine, en revanche l'association avec des agents myélosuppresseurs apparaît difficile à cause de la majoration de la fréquence et de la sévérité des cytopénies induites.

I.5- Pharmacocinétique

La pharmacocinétique des vinca-alcaloïdes est caractérisée par une très grande variabilité interindividuelle [21].

1.5.1- Modèles pharmacocinétiques

Le profil PK des concentrations plasmatiques de la vinorelbine est bien décrit par un modèle tri-compartmental linéaire, [22]. Les paramètres PK de la vinorelbine présentent également une large variabilité interindividuelle avec une clairance totale élevée ($0,27$ à $1,49 \text{ L.hr}^{-1}.\text{Kg}^{-1}$), un large volume de distribution ($9,3$ à 76 L.Kg^{-1}) et un temps de demi-vie terminal long (18 à $67,8 \text{ h}$) [23-25] . Les concentrations sanguines de la vinorelbine sont 1,9 fois plus élevées que celles trouvées dans le plasma [26].

1.5.2- Absorption et Distribution

La vinorelbine est principalement distribuée dans les cellules sanguines et en particulier les plaquettes. En effet, les études in vitro ont montré que les plaquettes sont le principal transporteur de la vinorelbine dans le sang et que cette dernière était fixée à 78% aux plaquettes, 14% aux protéines sériques et 6% aux lymphocytes. Les 2% restant, sont la fraction de la vinorelbine qui se trouve libre dans le sang circulant [27].

Le ratio des concentrations sanguine/plasmatique augmente rapidement entre 2 et 2,5 après la perfusion et diminue ensuite lentement pour atteindre 1,5 au bout de 72 heures, suggérant ainsi une distribution importante vers les cellules sanguines [24]. Cette fixation de la vinorelbine aux cellules sanguines a pour conséquence, une meilleure valeur prédictive, des paramètres PK pour l'efficacité et la toxicité, obtenus à partir des concentrations dans le sang total que ceux obtenus à partir du plasma.

La diffusion tissulaire de la vinorelbine est importante notamment au niveau du tissu pulmonaire [28].

Après une administration par voie *per os*, la vinorelbine est rapidement absorbée et présente une biodisponibilité absolue de $43\% \pm 14\%$ [29].

1.5.3- Métabolisme

Le métabolisme de la vinorelbine est essentiellement hépatique via la superfamille des cytochromes P450 (CYP) et en particulier le CYP3A4 [30].

Le terme cytochrome P450 recouvre en réalité un grand nombre d'isoenzymes (plus de 55) qui se subdivisent en différentes familles (1, 2, 3, 4,...), sous-familles (2A, 3A, 2C,...) et membres de sous-familles (2A1, 2A2,...). Ce sont des enzymes qui catalysent l'oxydation des substances d'origine endogène et exogène [31]. Les isoformes les plus impliqués dans le métabolisme des médicaments anticancéreux

sont : CYP1A, CYP2B, CYP2C, et CYP3A [32]. Les protéines de la sous-famille CYP3A sont impliquées dans le métabolisme de 45% à 60% des médicaments utilisés[33]. Différents facteurs comme l'âge, le sexe, le polymorphisme génétique, etc. peuvent contribuer à la variabilité d'activités des CYP [34].

Les CYP3A4 ont montré l'activité métabolique la plus intense dans les microsomes hépatiques vis-à-vis de la vinorelbine. La variabilité interindividuelle de l'activité des CYP3A4 explique en partie la large variabilité PK de la vinorelbine observée chez les patients. Différents métabolites hydroxylés, déméthylés ou oxydés ont été mis en évidence, seul le déacetyl vinorelbine a été détecté dans les urines en quantité très faible et n'a pas été trouvé dans le plasma [35]. Le métabolisme de la vinorelbine peut être affecté par les molécules ayant une activité inhibitrice ou inductrice sur les CYP3A4.

Par ailleurs, l'une des raisons qui explique la résistance des cellules à la vinorelbine est que cette dernière est connue pour être un des substrats de la glycoprotéine-P qui intervient dans le système de résistance multidrug ou MDR [36].

1.5.4- Élimination

L'excrétion rénale de la vinorelbine est très faible alors que la clairance hépatique et/ou le métabolisme hépatique jouent un rôle très important dans son élimination. L'élimination par la voie biliaire représente 70 à 80% de la dose administrée [37]. Une altération de la fonction hépatique due à une insuffisance hépatique ou à des métastases hépatiques diminuerait l'élimination de la vinorelbine.

I.6- Pharmacocinétique de population

Plusieurs approches PK de population ont été réalisées afin d'identifier les sources de variabilité PK de la vinorelbine [38, 39]. Ces études ont montré l'influence de la surface corporelle (BSA) et du nombre des plaquettes avant l'administration de la vinorelbine, sur la clairance totale ainsi que sur la distribution de cette dernière. Ces études n'ont montré aucun effet des métastases hépatiques sur la CL de la vinorelbine. Une diminution de la CL de la vinorelbine a cependant été observée lors d'un envahissement métastatique de plus de 75% du foie par les métastases [40].

Lors de cette approche de population une tendance de l'influence de l'augmentation des taux sériques de deux biomarqueurs hépatiques (ASAT et ALAT), sur la diminution de la CL totale de la vinorelbine, a été détectée. Cependant, cette relation n'a pu être estimée qu'avec une précision médiocre et n'est attribuée à une diminution des variabilités que de façon mineure.

Ces auteurs préconisent l'utilisation de la surface corporelle dans le calcul de la dose à administrer aux patients mais, ils minimisent l'influence du nombre des plaquettes, de la clairance à la créatinine et des enzymes hépatiques sur la magnitude de changement de la CL de la vinorelbine. Par conséquent, une adaptation de dose de la vinorelbine basée sur ces covariables n'est pas utile sauf quand il s'agit des patients ayant des valeurs extrêmement anormales de ces paramètres physiologiques.

Enfin, ces études ont montré que l'administration orale de la vinorelbine n'introduisait pas de source de variabilité interindividuelle supplémentaire par rapport à une administration par voie iv.

II- LE LAPATINIB (TYVERB[®])

II.1- HISTORIQUE

Chez l'homme, la famille des récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase (TK) ErbB est constituée de 4 membres : ErbB1/EGFR (epidermal growth factor receptor), ErbB2/HER-2, ErbB3/HER-3, et ErbB4/HER-4 [41].

Ces récepteurs TK sont constitués :

- a- d'un domaine extracellulaire pour la fixation du ligand,
- b- d'un domaine transmembranaire constitué d'une bicouche lipidique,
- c- d'un domaine catalytique intra cytoplasmique ou protéine à activité TK [42].

Ces récepteurs ne sont pas figés sur la membrane et lorsqu'un ligand se fixe sur le domaine extra membranaire, il se produit une dimérisation. Ces dimères peuvent être soit des homodimères soit des hétérodimères (Figure 5) [43].

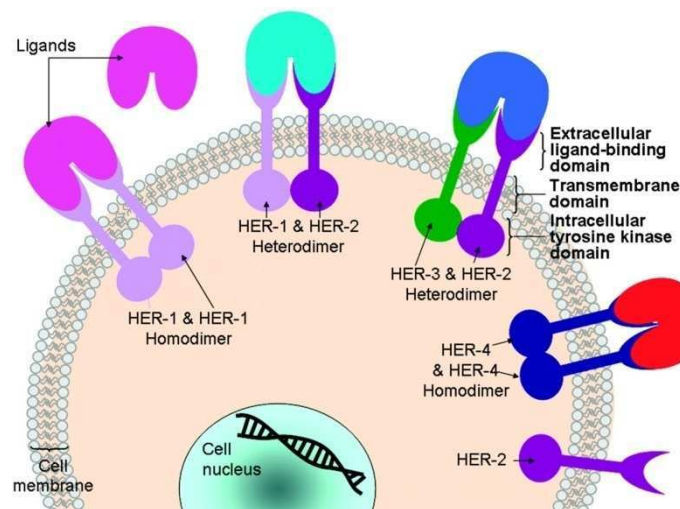


Figure 5

Cette dimérisation déclenche l'autophosphorylation de la zone enzymatique intracellulaire [44] et a pour conséquence l'activation d'autres voies de signalisation qui aboutit à la prolifération, la survie, la motilité des cellules. Depuis plusieurs années, le ciblage de ces voies de signalisation par des inhibiteurs des récepteurs TK est devenu un axe majeur dans le traitement du cancer (thérapie ciblée). En effet, le blocage des voies de signalisation intracellulaires grâce à de petites molécules pouvant traverser la membrane cytoplasmique peut se faire en inhibant la zone d'activité enzymatique de la tyrosine kinase : c'est la principale action du lapatinib.

Le lapatinib ditosylate est commercialisé sous le nom de (Tykerb™/Tyverb) par les laboratoires GSK. Il est indiqué en combinaison avec la capécitabine (Xeloda™) dans le traitement des cancers du sein en rechute ou très avancés, qui ont une surexpression de l'antigène HER2 et qui ont déjà reçu un traitement par anthracycline, un taxane, et ne répondent plus au trastuzumab. En effet, le lapatinib induit l'apoptose au niveau des cellules cancéreuses du sein surexprimant HER2 et résistantes au trastuzumab [45] et augmente significativement la survie sans progression lorsqu'il est associé à la capécitabine comparé à l'action de l'antimétabolite seul [46].

Le lapatinib est également utilisé en association avec un inhibiteur de l'aromatase (un autre type de médicament anticancéreux) chez les femmes ménopausées, lorsque le cancer est métastatique et répond à un traitement hormonal. Cette association est utilisée chez les femmes qui n'ont pas, à ce stade, besoin de recevoir une chimiothérapie standard.

La commission européenne a délivré le 10 juin 2008, une autorisation conditionnelle de mise sur le marché valable dans toute l'Union européenne pour Tyverb® à Glaxo Group Limited, [47].

II.2- Propriétés physico-chimiques

Il s'agit d'une petite molécule de la famille des 4 anilinoquiazolines. Il est utilisé sous forme de sel de ditosylate monohydraté avec un poids moléculaire de 943,5 g/mol (Figure 6).

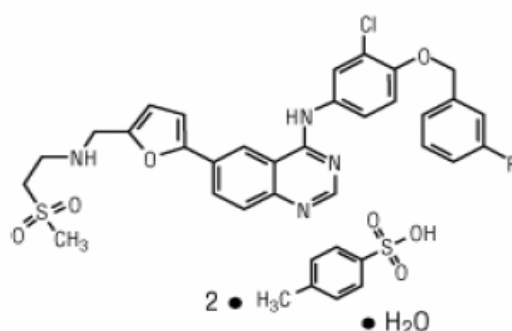
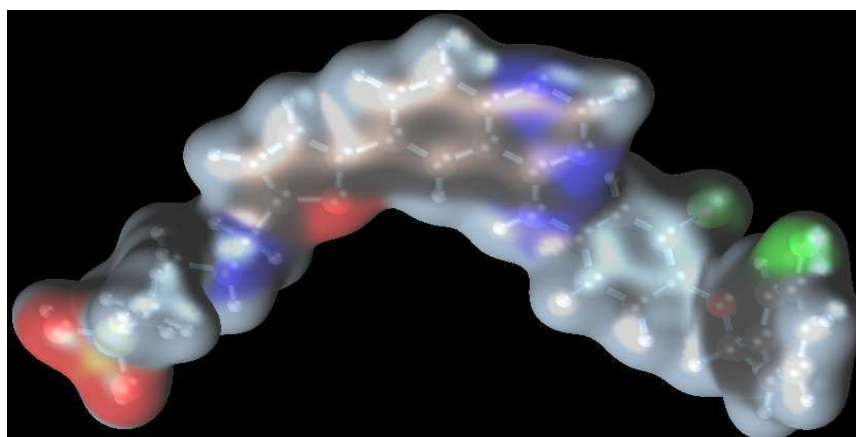


Figure 6

Le poids moléculaire du lapatinib sans ditosylate est de 581,058 g/mol (Figure 7).

Il s'agit d'une poudre jaune soluble dans l'eau et HCl 0,1N. La solubilité du lapatinib est pH-dépendante.



Formule	$C_{29}H_{26}ClFN_4O_4S$
Mol. mass	581.058 g/mol

Figure 7

L'administration concomitante d'un traitement contenant des substances augmentant le pH gastrique doit être évitée, en raison du risque de diminution de la solubilité et de l'absorption du lapatinib.

Le lapatinib n'est pas une molécule chirale et ne présente pas de stéréo-isomérisation.

II.3- Mécanisme d'action

Le lapatinib inhibe l'activité tyrosine kinase à la fois des récepteurs ErbB1 et ErbB2. Agissant au niveau de la tyrosine kinase, il est capable d'agir, que le récepteur extracellulaire soit actif ou non, et il pourrait agir sur plusieurs effecteurs intracellulaires. En effet, de par sa petite taille, il intervient à l'intérieur de la cellule en se fixant de manière réversible sur le domaine de fixation de l'ATP des TK, bloquant ainsi la phosphorylation et l'activation des voies de signalisation en aval comme les MAPK (mitogen activated protein kinase) et la phosphatidylinositol 3' kinase (PI3K/Akt) [48].

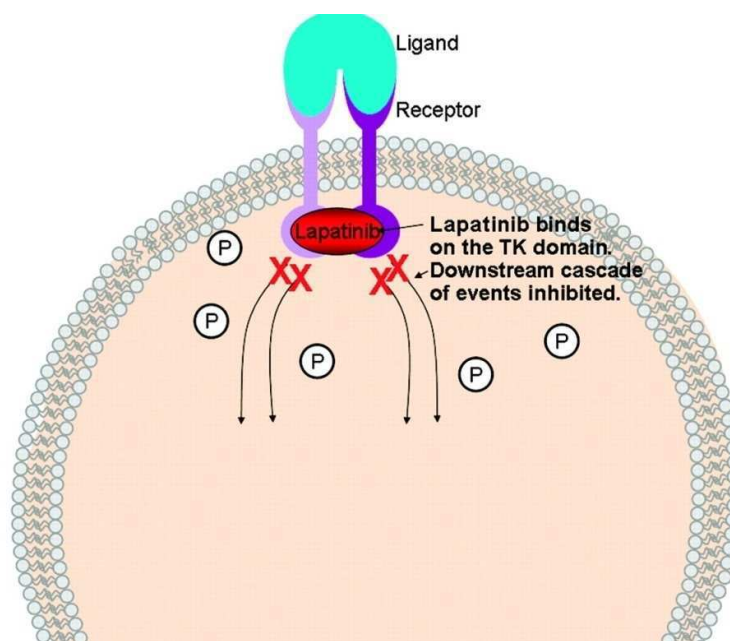


Figure 8

II.4- Tolérance au cours des études cliniques

Comme la plupart des petites molécules ciblées contre les TK, le lapatinib est généralement bien toléré. Cependant les principales toxicités observées se résument à trois toxicités relativement fréquentes [49]:

a- Diarrhée

En monothérapie, la diarrhée est la principale toxicité observée (42%). Dans l'association habituelle à la capécitabine, la diarrhée survient dans environ 20% des cas (quelques cas de nausées et vomissements).

b- Toxicité cutanée

En monothérapie, on observe des rashes (31%) qui semblent différents du syndrome mains-pieds. En association, il est difficile d'attribuer l'érythrodysesthésie palmo-plantaire au lapatinib, puisque les principales études ont eu lieu en association avec la capécitabine qui peut donner elle-même un syndrome mains - pieds.

c- Toxicité cardiaque

Chez un certain nombre de malades, on a observé une diminution de la fraction d'éjection ventriculaire. Cependant, après arrêt, on observe souvent un retour à la normale, permettant la reprise du traitement. La signification exacte de cette 'toxicité' mérite de plus amples explorations.

II.5- Pharmacocinétique

La pharmacocinétique du lapatinib a été évaluée au moyen d'une série d'études in vivo portant sur son administration par voie orale et intraveineuse (IV) chez la souris,

le rat, le lapin et le chien [50]. La majorité des études pharmacocinétiques à dose unique et des études portant sur la distribution, le métabolisme et l'excrétion du lapatinib ont été effectuées sur du lapatinib radiomarké au ^{14}C [47].

II.5.1- Modèles pharmacocinétiques

La plupart des études pharmacocinétiques du lapatinib n'ont pas utilisé une modélisation PK pour décrire l'évolution de ses concentrations plasmatiques en fonction du temps. Seulement deux études (en dehors de celle réalisée par notre laboratoire) ont utilisé une modélisation mono-compartimentale avec une constante d'absorption orale (K_a) [44, 45]. L'une de ces deux études a été réalisée chez les volontaires sains pour déterminer l'impact d'une inhibition ou d'une induction enzymatique des CYP3A4 sur la PK du lapatinib [51] et l'autre est une étude clinique de phase I/II chez les patients atteints de glioblastome multiforme [52].

Les autres études PK du lapatinib indiquent que l'état d'équilibre est atteint au bout de 7 jours ce qui correspond à un temps de demi-vie de 24h. Les concentrations plasmatiques maximales (C_{\max}) de lapatinib ont été atteintes environ 4 heures après l'administration. Pour une administration quotidienne de 1250 mg, la moyenne géométrique de la C_{\max} à l'état d'équilibre est de 2,43 $\mu\text{g/mL}$ et la valeur de l'aire sous la courbe (ASC), de 36,2 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$.

II.5.2- Absorption

Des études portant sur l'absorption du lapatinib après l'administration d'une dose unique ou de doses multiples ont été effectuées chez la souris, le rat et le chien. Les propriétés relatives à l'absorption observées étaient semblables chez les différentes espèces.

La biodisponibilité absolue varie beaucoup (la biodisponibilité chez le rat se situait entre 11,1 % et 51,6 % et chez le chien, entre 15,7 % et 114 %) [47].

Chez l'homme, la biodisponibilité absolue du lapatinib n'est pas connue mais l'absorption est incomplète et variable (coefficient de variation de l'ASC d'environ 70 %). Les concentrations plasmatiques apparaissent après un temps de latence médian de 0,25 heure. Le pic des concentrations plasmatiques (C_{\max}) est atteint environ 4 heures après administration.

L'absorption du lapatinib est augmentée par la prise de nourriture. Les valeurs de l'ASC sont 3 et 4 fois plus élevées (C_{\max} environ 2,5 à 3 fois plus élevée) lorsque le produit est pris avec un repas à faible teneur en graisses (5 % de graisses) ou à forte teneur en graisses (50 % de matières grasses), respectivement [53]. Pour assurer une exposition optimale, lapatinib doit être administré ou au moins une heure avant ou une heure après un repas à faible teneur en matières grasses [53].

II.5.2- Distribution

La liaison du ^{14}C -lapatinib aux protéines plasmatiques et aux érythrocytes a été évaluée in vitro dans des échantillons prélevés chez la souris, le rat, le lapin, le chien et l'homme. La liaison aux protéines plasmatiques était très élevée (> 99 %) chez toutes les espèces étudiées. La liaison du ^{14}C -lapatinib aux érythrocytes variait selon l'espèce; elle était plus faible dans les échantillons prélevés chez la souris, le rat et l'homme que dans ceux prélevés chez le lapin et le chien.

Des études in vitro indiquent que le lapatinib est un substrat des transporteurs BCRP et PgP [54].

La distribution tissulaire in vivo a été étudiée chez le rat mâle albinos ou pigmenté après l'administration par voie orale de ^{14}C -lapatinib (10 mg/kg). La distribution a été

évaluée par autoradiographie du corps entier. De faibles concentrations tissulaires de radioactivité par rapport à la dose administrée (10 mg/kg) ont été notées et des concentrations de radioactivité élevées ont persisté dans le tube digestif pendant 24 heures après l'administration. La radioactivité absorbée était bien distribuée et la concentration maximale était atteinte 4 heures après l'administration. Les tissus présentant une radioactivité étaient les suivants : poumon, foie, rein, surrénales, rate et uvée (chez le rat pigmenté) [47].

II.5.3- Métabolisme

Des études in vitro réalisées sur des microsomes hépatiques, des hépatocytes et des enzymes (CYP) du cytochrome P450 exprimées de manière hétérologue, ainsi qu'une série d'études in vivo chez la souris, le rat et le chien, indiquent que le lapatinib est principalement métabolisé par les CYP3A4, CYP3A5 et CYP2C8 [47].

Les biotransformations courantes chez toutes les espèces examinées étaient l'oxydation, la N désalkylation et la O désalkylation ainsi que la sulfo-conjugaison [47].

Chez l'homme, le lapatinib est largement transformé en divers métabolites oxydés, principalement par le CYP3A4 et le CYP3A5 et dans une moindre mesure par le CYP2C19 et le CYP2C8 [55].

II.5.4- Excrétion

Après l'administration par voie orale d'une dose unique de ^{14}C -lapatinib chez la souris, le rat et le chien, les matières fécales constituaient la principale voie d'élimination. L'élimination par la voie urinaire était négligeable [47].

Dans une étude chez l'homme, la voie fécale était la principale voie d'élimination, la quantité retrouvée dans les fèces correspondant à 91,8 % de la dose récupérée. L'élimination par voie urinaire était minime, soit une quantité médiane équivalent à 1,16 % de la radioactivité récupérée [55].

.

II.6- Pharmacocinétique de population

En dehors du travail effectué par notre laboratoire, une seule étude a réalisé une approche PK de population du lapatinib [52].

Cette approche a permis d'estimer les paramètres PK de population suivante : La clairance apparente (CL/F) le volume de distribution apparent (V/F) et la constante d'absorption (k_a). Au total 16 patients ont été évalués pour la PK avec les paramètres PK de population suivants :

$$\text{CL}/F (\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}) = 12,1 (\pm 3,2),$$

$$V/F (\text{L} \cdot \text{m}^{-2}) = 124,0 (\pm 52,3) \text{ et } k_a (\text{h}^{-1}) = 0,124 (\pm 0,039).$$

Seule l'administration concomitante de médicaments anti épileptiques inducteurs enzymatiques a montré une influence significative sur la clairance apparente du lapatinib, augmentant ainsi cette dernière de dix fois sa valeur moyenne.

II.7- Interactions médicamenteuses

Le lapatinib est essentiellement métabolisé par le foie via les cytochromes CYP3A et éliminé dans les fèces [49].

L'inhibition des CYP3A4 par le lapatinib est basée sur le mécanisme d'inactivation (Mechanism-based inactivation). En effet, cette inhibition est réalisée par la formation, à partir d'un métabolite désalkylé du lapatinib, d'une entité intermédiaire (quinonéimine) qui modifie de façon covalente la structure du CYP3A4 [56]. Ces deux propriétés (métabolisme/inhibition) du lapatinib peuvent être à l'origine des interactions médicamenteuses.

Chez les volontaires sains recevant du kétoconazole, puissant inhibiteur du cytochrome CYP3A4, à la dose de 200 mg deux fois par jour pendant 7 jours, l'exposition systémique au lapatinib (100 mg par jour) est augmentée d'environ 3,6 fois et la demi-vie de 1,7 fois [51].

La co-administration du lapatinib avec les inhibiteurs puissants du cytochrome CYP3A4 (par exemple : ritonavir, saquinavir, télithromycine, kétoconazole, itraconazole, voriconazole, posaconazole, nefazodone [57] doit être évitée.

La co-administration du lapatinib avec des inhibiteurs modérés du cytochrome CYP3A4 devra faire l'objet d'une attention particulière et les effets indésirables devront être étroitement surveillés.

Chez les volontaires sains recevant de la carbamazépine, un inducteur du cytochrome CYP3A4, à la dose de 100 mg deux fois par jour pendant 3 jours et 200 mg deux fois par jour pendant 17 jours, l'exposition systémique au lapatinib a été diminuée d'environ 72 % [51].

La co-administration du lapatinib avec les inducteurs connus du cytochrome CYP3A4 (par exemple : rifampicine, rifabutine, carbamazépine, phénytoïne ou millepertuis (*Hypericum perforatum*) [57] doit être évitée.

B- PROTOCOLE CLINIQUE

I- INTRODUCTION

La surexpression de HER2 est retrouvée dans 25 à 30% des cancers du sein métastatiques, conférant ainsi à ces tumeurs un pronostic plus péjoratif [58]. L'apparition de résistances aux traitements à base d'Herceptin®, incite les oncologues à chercher des traitements alternatifs pour les patients atteints de cancer du sein (HER)-positif.

En effet, la résistance au trastuzumab apparaît durant l'année suivant l'instauration du traitement [59].

Dans cet optique, une étude clinique de phase I évaluant l'association du lapatinib et de la vinorelbine chez les patientes atteintes du cancer du sein localement avancé ou métastatique surexprimant HER2 a été mise en place. L'ensemble des données concernant ces deux molécules ont suggéré une synergie d'action et ont incité les cliniciens à démarrer un protocole clinique d'association.

II- MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1- Patientes

Les patientes éligibles pour cette étude phase-I multicentrique avec escalade de doses sont des femmes de 18 ans ou plus avec un cancer du sein histologiquement confirmés surexprimant HER2 localement avancé ou métastatique.

La surexpression de HER2 a été définie par un score 3 + par immunohistochimie, ou un score 2 + avec une fluorescence positive par l'hybridation in situ. Les patientes devaient avoir reçu une ou deux lignes de chimiothérapie avec du trastuzumab, en situation adjuvante ou métastatique. Le trastuzumab devant être arrêté au moins 3

semaines avant l'étude. Les critères d'inclusion supplémentaires étaient : un indice de performance OMS allant de 0 à 2, et des fonctions hématologiques, hépatiques, cardiaque et rénale adéquates. Les critères d'inéligibilité incluaient un traitement concomitant par des modulateurs du CYP3A4 (inhibiteurs ou des inducteurs) ou des agents modificateurs de pH, d'importants troubles gastro-intestinaux qui affectent la prise orale et un traitement préalable avec la vinorelbine. Toutes les patientes ont signé un consentement éclairé.

II.2- Schéma de l'étude

Les patientes ont reçu une dose de charge de lapatinib pendant 7 jours (jours -7 à jour 1 du cycle 1) afin d'atteindre l'état d'équilibre avant la première administration de la vinorelbine. Le lapatinib est administré quotidiennement par voie *orale* et de façon continue, la vinorelbine est administrée par voie intraveineuse en perfusion de 15 minutes le jour 1 et le jour 8 toutes les 3 semaines. Huit niveaux de dose sont pré-définis (Dose Level en anglais) pour lapatinib (mg) / vinorelbine (mg / m²):

750/20, 1000 / 20 ; 1000 / 22,5 ; 1000 / 25 ; 1250 / 25 ; 1500 / 25 ; 1250 / 27,5 et 1250 / 30.

La prophylaxie primaire des neutropénies par des facteurs de croissance n'est pas autorisée au cycle 1 et laissée au choix de l'investigateur au cycle 2.

II.3- Étude pharmacocinétique

II.3.1- Protocole pharmacocinétique

Avant de débiter le traitement, un cathlon de petit calibre est posé le premier jour sur le bras opposé à la perfusion de la vinorelbine, pour permettre les prélèvements PK successifs sans traumatismes vasculaires répétés. Les prélèvements sanguins en

vue de l'étude PK sont réalisés le premier jour du premier cycle pour les deux molécules.

Pour le dosage du lapatinib, pour chaque point de PK, 4,5 mL de sang sont prélevés dans des tubes contenant de l'héparinate de lithium puis centrifugés à 4100 tpm pendant 5 minutes à +4°C afin de séparer le plasma. Le plasma ainsi recueilli est immédiatement congelé à -20°C et conservé jusqu'à l'analyse.

Les horaires des points de PK pour le lapatinib sont choisis de la manière suivante :

T0 (juste avant la prise du lapatinib, T1 (1h après la prise du lapatinib), T2 (3h après la prise), T3 (6h après la prise), T4 (8h après la prise), T5 (12h après la prise), et T6 (24h après la prise).

Pour le dosage de la vinorelbine, 3,5 mL de sang total sont prélevés dans des tubes en verre siliconé (pour éviter l'adsorption de la vinorelbine sur les parois) contenant de l'héparinate de lithium et directement congelés à -20°C jusqu'à l'analyse.

Les horaires des points de PK pour la vinorelbine sont choisis de la manière suivante :

T0 (juste avant le début de la perfusion de la vinorelbine), T1 (12 minutes après le début de la perfusion), T2 (1h après le début de la perfusion), T3 (3h après le début de la perfusion), et T4 (24h après le début de la perfusion). Dans tous les cas les horaires réels sont notés.

II.3.2- Méthode de dosage de la vinorelbine

Les concentrations sanguines de la vinorelbine sont mesurées par une technique de chromatographie liquide ultra performante couplée à la spectrométrie de masse en tandem cf. figure 9 (UPLC-MS/MS Ultra Performance Liquid Chromatography with

tandem mass spectrometry en anglais) selon la technique de Van Heugen et al [60] adaptée par notre laboratoire.



Figure 9. UPLC-MS/MS

De manière succincte, cette méthode consiste à extraire la vinorelbine et l'étalon interne «vinblastine» (une molécule que l'on ajoute en quantité constante dans tous les tubes afin de minimiser les erreurs dues à la technique) de la matrice biologique (sang des patientes) et de les injecter dans le système chromatographique pour la séparation et la quantification.

II.3.2.1- Procédure d'extraction

Cette partie de préparation des échantillons est réalisée en deux étapes :

- a) première extraction : sur 200 μ L de sang est ajouté 500 μ L de méthanol, le mélange est agité pendant une minute au vortex et ensuite centrifugé à 14000 tpm pendant 4 minutes. Le surnageant est décanté dans des tubes siliconés.
- b) Seconde extraction : on ajoute 2 mL d'acétonitrile, 50 μ L d'étalon interne dans chaque tube. Le mélange est agité pendant une minute au vortex et passé au bain d'ultrason pendant cinq minutes. Ensuite les échantillons sont centrifugés dix minutes à 4100 tpm et le surnageant sera évaporé sous flux d'azote.

L'extrait sec ainsi obtenu est repris par 100 µL de phase mobile et injecté dans le système UPLC.

II.3.2.2- Conditions chromatographiques

La séparation des molécules est réalisée sur une colonne de chromatographie liquide BEH C18 d'une longueur de 5 cm et d'une granulométrie de 1,7 µm. Il s'agit d'une chromatographie liquide en phase inverse c'est-à-dire une phase stationnaire apolaire (La phase stationnaire est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 18 atomes de carbone) et une phase mobile polaire (acétonitrile + eau avec 0,1% d'acide formique).

C'est grâce au système UPLC qu'il est possible d'utiliser des colonnes avec une granulométrie de très petite taille car ce système peut supporter des pressions très élevées qui sont générées. Le système UPLC a plusieurs avantages par rapport à une chromatographie liquide à haute performance standard (CLHP, HPLC en anglais) :

- a- Une meilleure résolution grâce à une granulométrie de petite taille.
- b- Un temps d'analyse beaucoup plus court grâce à des colonnes plus courtes et un débit de phase mobile plus élevé.

La vinorelbine et la vinblastine sont séparées en mode *gradient*, c'est-à-dire avec une variation de la concentration des constituants du mélange d'éluant au cours du temps (voir le tableau 1).

Phase mobile A : Acétonitrile + 0,1% HCOOH

Phase mobile B : Eau + 0,1% HCOOH

Temps (min.)	% phase mobile A	% phase mobile B
initial	90	10
0,25	90	10
2	50	50
2,5	50	50
3	90	10
5	90	10

Tableau 1 Gradient de phase mobile avec un débit de liquide à 0,5 mL/min

Le temps de rétention qui est le temps écoulé entre le début de l'injection et la sortie du produit pour la vinorelbine et la vinblastine est de 2,14 min et 2,0 min respectivement. Le temps d'analyse total est de 5 minutes.

II.3.2.2- Détection par la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)

Les molécules séparées par la chromatographie liquide sont détectées par le spectromètre de masse en mode MS/MS. La spectrométrie de masse en tandem consiste à sélectionner un ion (précurseur) par un premier spectromètre de masse, à le fragmenter, puis à effectuer une deuxième spectrométrie de masse sur les fragments ainsi générés (ions produits) Figure 10.

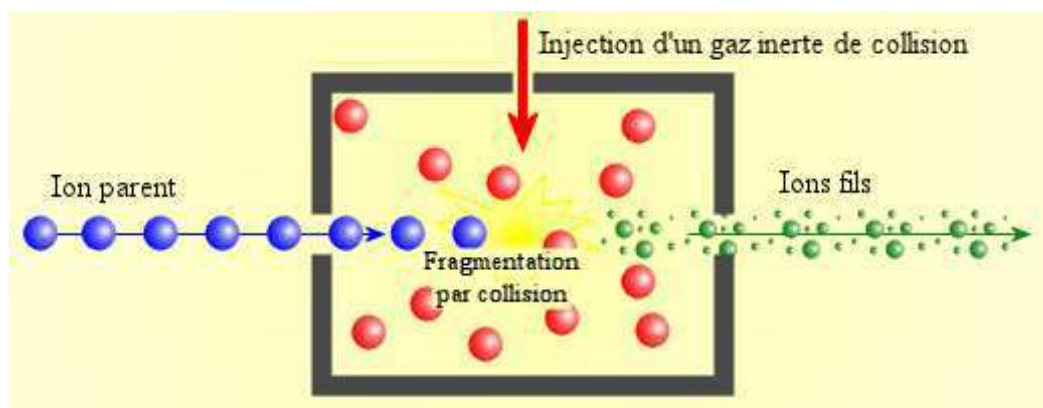


Figure 10

Les transitions spécifiques obtenues pour la vinorelbine et la vinblastine sont :

$779,5 \rightarrow 510,3$ m/z et $811 \rightarrow 542$ m/z avec une énergie de collision = 38 eV.

II.3.3- Méthode de dosage du lapatinib

Les concentrations plasmatiques du lapatinib sont également mesurées par une technique d'UPLC-MS/MS selon la technique de Bai F et al et la technique de dosage développée par les laboratoires GSK adaptées par notre laboratoire [61].

De manière succincte, cette méthode consiste à extraire le lapatinib et l'étalon interne « le midazolam » de la matrice biologique (plasma des patientes) et de les injecter dans le système chromatographique pour la séparation et la quantification.

II.3.2.1- Procédure d'extraction

Cette partie de préparation des échantillons est réalisée en une seule étape :

Extraction : dans 50 μ L de plasma est ajouté 10 μ L d'étalon interne à 1000 ng/mL ensuite nous procédons à une précipitation protéique avec 1 mL d'acétonitrile, le mélange est agité pendant une minute au vortex et ensuite centrifugé à 14000 tpm pendant 4 minutes. Le surnageant est décanté dans des tubes en polypropylène et

évaporé sous flux d'azote à +40°C. L'extrait sec ainsi obtenu est repris par 100 µL de d'un mélange d'acétonitrile / eau (20 / 80, V / V) et injecté dans le système UPLC.

II.3.2.2- Conditions chromatographiques

La séparation des molécules est réalisée sur une colonne de chromatographie liquide en phase inverse BEH shield RP18 d'une longueur de 10 cm et d'une granulométrie de 2,1 µm. La phase mobile est constituée d'acétonitrile et d'eau avec 0,1% d'acide formique.

Le lapatinib et le midazolam sont séparés en mode *gradient*, (voir le tableau 2).

Phase mobile A : Acétonitrile + 0,1% HCOOH

Phase mobile B : Eau + 0,1% HCOOH

Temps (min.)	% phase mobile	% phase mobile
	A	B
initial	10	90
0,25	20	80
2	70	30
2,5	70	30
3	10	90
5	10	90

Tableau 2 Gradient de phase mobile

Les temps de rétention du lapatinib et du midazolam sont de 1,43 min et 1,35 min respectivement. Le temps d'analyse total est de 5 minutes.

II.3.2.2- Détection par la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)

Les molécules séparées par la chromatographie liquide sont détectées par le spectromètre de masse en mode MS/MS (cf. page 31).

Les transitions spécifiques obtenues pour le lapatinib et le midazolam sont :

582 → 365 m/z et 326 → 291 m/z avec une énergie de collision à 30 eV pour le lapatinib et 26 eV pour l'EI.

II.3.4- Analyse pharmacocinétique

II.3.4.1- Approche individuelle

Cette approche consiste à estimer les paramètres PK de chaque patient indépendamment des autres sujets. Pour pouvoir réaliser une telle approche une grande quantité d'information pour chaque individu est nécessaire cela se traduit par un grand nombre de prélèvements biologiques par patient.

II.3.4.2- Pharmacocinétique de population et modélisation PK

La modélisation consiste en la structuration de l'information. Cette approche utilise l'information relative à tous les individus de la population étudiée afin d'estimer deux ensembles de paramètres qui sont : la PK moyenne et les variabilités interindividuelles et résiduelles [62].

Ces deux ensembles de paramètres constituent ce que l'on appelle « modèle à effets mixtes » car la PK moyenne caractérise les paramètres typiques ou les « effets fixes » et les variabilités, caractérisent les « effets aléatoires » autour de ces effets fixes dans la population étudiée.

Cette modélisation est donc réalisée au moyen d'un modèle pharmaco-statistique qui est la combinaison de ces deux effets à savoir :

a- un modèle pharmacologique, « effets fixes ou modèle structurel ». Ce modèle peut-être cinétique (évolution des concentrations du médicament en fonction du temps), dynamique (évolution des effets du médicament en fonction du temps) ou une combinaison des deux. Ces effets fixes sont définis par les paramètres cinétiques tels que, CL, Vd, Ka etc.

b- un modèle statistique, « effets aléatoires ». Ce modèle décrit les variabilités de la PK ou de la PD. Il existe plusieurs niveaux de variabilité :

- *Variabilité interindividuelle* (VII) qui quantifie l'écart entre le paramètre moyen de la population et celui de l'individu.
- *Variabilité interoccasion* (IOV) qui rend compte de la variation des paramètres au cours du temps, lors de réadministrations du médicament espacées dans le temps [63].
- *Variabilité résiduelle* qui mesure l'écart entre la valeur (concentration par exemple) prédite par le modèle et celle observée réellement, autrement dit la déviation de l'individu par rapport au modèle mathématique. Cette variabilité résiduelle traduit souvent les erreurs dues aux problèmes analytiques ou de recueil d'information comme les heures de prélèvements.

Plusieurs types de modèle d'erreur sont couramment utilisés pour représenter la relation décrivant les écarts aléatoires entre les paramètres prédits (P_i) et ceux observés (*TVP pour valeur typique du paramètre*) ou VII, et les concentrations prédites (P) et observées (O) ou variabilité résiduelle :

- Le modèle additif $P_i = TVP + \eta_i$ avec η_i une variable aléatoire représentant l'erreur interindividuelle
 $O = P + \varepsilon_{ij}$ avec ε_{ij} qui représente l'erreur résiduelle
- Le modèle proportionnel $P_i = TVP \times (1 + \eta_i)$
 $O = P \times (1 + \varepsilon_{ij})$
- Le modèle exponentiel $P_i = TVP \times \exp(\eta_i)$
 $O = P \times \exp(\varepsilon_{ij})$

- Le modèle mixte $O = P \times (1 + \varepsilon_{ij}) + \varepsilon_{ij}$
- $O = P + \varepsilon_{ij} + \exp(\varepsilon_{ij})$

Les concentrations sanguines et plasmatiques obtenues recueillies dans cette étude ont été modélisées avec le logiciel Monolix version 3.1s [64, 65]. La modélisation des données permet :

- de tester plusieurs hypothèses
- de hiérarchiser ces hypothèses par leur degré de significativité
- d'analyser et identifier les différentes sources de variabilité
- de prédire les concentrations

Le choix du modèle se fait en plusieurs étapes ;

- D'abord un modèle pharmaco-statistique de base qui permet de décrire au mieux l'évolution des concentrations observées en fonction du temps, et de trouver la meilleure adéquation entre les observations et les prédictions du modèle.
- ensuite on prend en compte les différentes covariables qui peuvent influencer cette évolution des concentrations et par conséquent diminuer les variabilités.

De nombreux modèles possibles, correspondant aux différentes combinaisons de ces variables explicatives seront ensuite confrontés afin de pouvoir choisir le meilleur modèle.

L'avantage de cette approche de PK-pop réside dans le fait qu'un nombre limité de prélèvements par patient suffit pour la réaliser.

Les différentes étapes de modélisation pour la vinorelbine et le lapatinib seront présentées ci-après :

1- La vinorelbine

Pour la vinorelbine, nous nous sommes basés sur les différentes études PK déjà réalisées sur cette molécule [38, 39, 66, 67]. Selon ces études la PK de la vinorelbine est mieux décrite par un modèle à trois compartiments avec une élimination d'ordre un et un compartiment central (CC), un compartiment périphérique superficiel (CP2) et un compartiment périphérique profond (CP3) Fig 11.

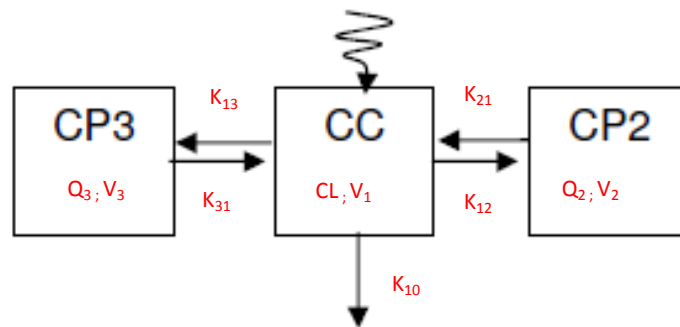


Figure 11

Les différentes étapes de construction de modèle sont les suivantes :

Étape 1 : Modèle sans covariable

Ce modèle tricompartimental comporte six paramètres :

- Clairance d'élimination : CL ;
- Clairances intercompartimentales : Q1 et Q2 ;
- Volume de distribution du compartiment central : V1 ;
- Volumes de distribution des compartiments périphériques : V2 et V3.

Ce modèle peut être décrit par les équations différentielles suivantes :

- $\frac{dq_c}{dt} = -k_{10} \cdot q_c - k_{12} \cdot q_c + k_{21} \cdot q_{p2} - k_{13} \cdot q_c + k_{31} \cdot q_{p3}$
- $\frac{dq_{p2}}{dt} = k_{12} \cdot q_c - k_{21} \cdot q_{p2}$
- $\frac{dq_{p3}}{dt} = k_{13} \cdot q_c - k_{31} \cdot q_{p3}$
- $CC = q_c / V_1$

Avec

- q_c : la quantité du médicament dans le compartiment central ;
- q_{p2} et q_{p3} : la quantité du médicament dans les compartiments périphériques ;
- k_{10} : constante d'élimination du compartiment central ;
- $k_{12}, k_{21}, k_{13}, k_{31}$: constantes de transfert ;
- CC : concentration du médicament dans le compartiment central.

Afin de décrire les variabilités interindividuelles, un modèle exponentiel avec une distribution log normale des valeurs P_i a été choisi :

- $P_i = TVP * \exp(\eta_i)$ où TVP est la valeur typique du paramètre P dans la population, P_i est la valeur individuelle de P et η_i est une variable aléatoire répartie selon une loi Normale de moyenne 0 et de variance ω_p^2 .

En ce qui concerne « la variabilité résiduelle » nous avons choisi un modèle proportionnel :

- $Y_{ij} = F_{ij}^* (1 + \varepsilon_{ij})$ avec Y_{ij} qui représente la j^e observation du $i^{ème}$ individu, F_{ij} qui est la valeur prédite par le modèle et ε_{ij} qui est une variable aléatoire répartie selon une loi Normale de moyenne 0 et de variance σ^2 .

Étape 2 : Recherche de covariables ou analyse unifactorielle.

Durant cette étape nous testons d'abord individuellement l'influence de chacune des covariables sur les paramètres PK. Il s'agit de construire des modèles simples reliant une seule covariable à un seul paramètre. Ensuite, les covariables retenues sont testées ensemble afin de vérifier leurs influences respectives.

Pour cela, nous évaluons l'effet de chaque covariable de la manière suivante :

- par une approche diagnostique du modèle ou « vérification graphique de l'ajustement du modèle (Goodness-of-Fit plots) » qui consiste à représenter graphiquement les valeurs prédites et les valeurs observées correspondantes, afin de les comparer [68]. Plusieurs graphiques sont réalisés en visualisant :
 - a) les prédictions de la population versus observations,
 - b) Les prédictions individuelles versus observations,
 - c) Les résidus (définis comme la différence entre l'observation et la prédiction) versus prédictions,
- les NPDE [69]
- par la prise en compte de la précision de l'estimation des paramètres et la diminution de la variabilité.

Des tests spécifiques comparant le maximum de vraisemblance, le critère d'information d'Akaike [70] (AIC) et le critère d'information Bayésien (BIC) sont élaborés afin de vérifier les différentes hypothèses concernant le modèle PK final, l'effet des covariables, les différents modèles de variabilités résiduelles (proportionnelle versus proportionnelle et additive) et la structure de la matrice de variance-covariance pour les VII.

Au cours de cette analyse, nous avons testé l'influence des covariables suivantes :

a) covariables continues : âge, poids en Kg, taille en cm, surface corporelle en m², créatinine en µM, poids idéal (IBW), poids de masse maigre (LBM), nombre des plaquettes. Une variable continue, telle l'âge, la surface corporelle, le nombre de plaquettes, peut prendre n'importe quelle valeur dans un intervalle infini.

b) covariables catégorielle et/ou continue: lapatinib

Une variable catégorielle comme le sexe d'un individu, l'administration ou pas d'un autre médicament, ne peut prendre qu'un nombre fini.

Les covariables ont été testées sur les paramètres du modèle pharmacologique à condition que l'estimation d'une VII accompagne le paramètre PK en question.

Pour chaque paramètre PK et pour chaque covariable continue (Y), l'équation typique suivante a été utilisée :

$$P_i = P_{\text{TYPICAL}} \times (Y_i/Y_m)^{\text{PWR}}$$

Où P_i présente la valeur du paramètre de l'ième individu, P_{TYPICAL} la valeur typique du paramètre, Y_m la valeur moyenne de la covariable et PWR le facteur influençant le paramètre via la variation de la covariable étudiée. On note que pour $\text{PWR} = 0$, il n'y a aucun effet de la covariable. Si $\text{PWR} = 1$, le paramètre P_i est strictement proportionnel à la covariable étudiée.

En ce qui concerne l'étude de l'influence du poids corporel, les paramètres PK sont normalisés de façon allométrique pour un individu de poids moyen égal à 70Kg de la manière suivante :

$$P_i = P_{\text{TYPICAL}} \times (BW_i/70)^{\text{PWR}}$$

Le PWR a été fixé à 0,75 et 1 pour les paramètres CL et V respectivement.

Nous avons également vérifié l'influence du :

- poids idéal (IBW) qui est calculé selon la formule :

$$IBW(kg) = Taille (cm) - x$$

Où $x = 100$ pour les hommes et $x = 105$ pour les adultes femmes [71]

- poids maigre (LBM) qui se calcule selon la formule :

Pour un homme ; $LBM = 1,1(\text{poids}) - 128(\text{poids/taille})^2$

Pour une femme; $LBM = 1,07(\text{poids}) - 148(\text{poids/taille})^2$

L'influence du lapatinib sur la CL de la vinorelbine a également été testée selon le système suivant :

Si Lap = 750 (groupe de référence) $CL = CL_{typ}$

Si Lap = 1000 ou 1250 $CL = CL_{typ} \times \theta$

Ainsi dans le cas où les doses de 1000 et 1250 mg de lapatinib ont une influence sur le groupe de référence (750 mg de lapatinib), la CL est modifiée par le facteur θ .

Nous avons également testé l'influence du lapatinib avec un modèle direct, un modèle Emax, un modèle sigmoïdal, un modèle Lap50, et un modèle Lap50 avec coefficient de sigmoïdité (γ). Tous ces modèles sont présentés en annexes 1-5.

2- Le lapatinib

Pour décrire les paramètres PK du lapatinib, nous avons testé plusieurs modèles pour une administration orale.

Les VII sont estimées par un modèle exponentiel avec une distribution log normale comme pour la vinorelbine.

Quant aux variabilités résiduelles, elles sont estimées par un modèle proportionnel comme c'est le cas pour la vinorelbine.

Le choix du modèle de base est réalisé après avoir testé un modèle monocompartimental avec élimination d'ordre un, un modèle bicompartimental avec élimination d'ordre un et un modèle tricompartimental.

L'effet de plusieurs covariables comme l'âge, le poids, la taille, le poids idéal, et la surface corporelle, sur les paramètres PK du lapatinib, a également été vérifié.

Nous avons testé l'effet éventuel de la vinorelbine sur les paramètres PK du lapatinib de deux manières :

- Continue
- Catégorielle

Le meilleur modèle est choisi en nous basant sur les critères d'information AIC, BIC, par la *vérification visuelle de la qualité prédictive du modèle* (VPC pour Visual predictive checks) [72] et également par la précision des estimations.

Plusieurs tests statistiques comparant les valeurs du maximum des vraisemblances, des AIC/BIC, sont également réalisés pour vérifier les différentes hypothèses concernant le modèle final, l'effet des covariables, le choix du modèle d'erreur résiduelle (proportionnelle *versus* proportionnelle+additive) et la structure de la matrice de variance-covariance des VII des paramètres PK.

La vérification de la qualité prédictive du modèle se fait à partir du modèle structurel choisi et des valeurs estimées des paramètres en simulant un grand nombre de fois (entre 400 et 500) les données de patients virtuels pour lesquels on prédit la variable dépendante, puis on compare les valeurs prédites à celles observées [72]. Ces données de patients virtuels proviennent soit de données ayant servi à construire le modèle, dans ce cas la validation est dite « interne », soit d'un autre jeu de données, dans ce cas la validation est nommée « externe ».

Dans cette étude, nous avons utilisé les jeux de données internes pour cette vérification de la qualité prédictive du modèle en utilisant 400 simulations.

Cela nous a permis de définir un intervalle de confiance bilatéral à 90% et de valider notre modèle de manière visuelle en nous basant sur un l'examen graphique de cet intervalle de confiance et des observations.

II.3.5- Analyse pharmacodynamique

La modélisation pharmacodynamique (PD) s'intéresse aux relations du type concentration-effet ou l'exposition au médicament (AUC)-effet, autant pour les effets thérapeutiques que toxiques. En effet, la maîtrise de l'exposition permet de maîtriser en partie l'effet.

La connaissance des relations entre pharmacocinétique (exposition) et pharmacodynamie (neutropénie ou autre effet) des anticancéreux, ainsi que l'identification des paramètres influençant ces relations permet d'optimiser les traitements. Ceci est d'autant plus vrai pour la vinorelbine car lors des études de phase I une relation pharmacocinétique-pharmacodynamique a été observée, illustrée par une corrélation significative entre la clairance de la vinorelbine et l'hématotoxicité (évaluée par le pourcentage de diminution des globules blancs et des polynucléaires neutrophiles) [67].

La toxicité principale observée durant ce protocole clinique a été la neutropénie fébrile, grade 3-4 chez 75% des patientes, et dès lors que le lapatinib ne présente pas d'effet hématotoxique, nous avons décidé de construire un modèle PD avec les données de la vinorelbine et de vérifier si le lapatinib n'accentue pas l'effet hématotoxique de la vinorelbine (interaction PK) :

i) Modélisation de la toxicité :

ii- Modèle structurel

Nous avons construit un modèle structurel avec les données de la vinorelbine obtenues durant cette étude clinique, afin d'étudier la toxicité hématologique de cette dernière illustrée par le taux des polynucléaires neutrophiles ou PNN et de tenter d'expliquer et de prévoir le degré et la durée de cette toxicité. Nous avons également

testé l'influence de la co-administration du lapatinib sur cette toxicité hématologique. Ce modèle tente de relier un paramètre PK (la CL de la vinorelbine) à la toxicité hématologique (paramètre PD) de façon linéaire, log-linéaire ou sigmoïde (E_{max}) [73]. Comme est illustré sur la figure 12, ce modèle est composé de :

- Un compartiment qui représente les cellules souches et progénitrices (cellules proliférantes) ou compartiment « Prol ».
- Trois compartiments de transit ou « TR1 à 3 » qui représentent les cellules en voie de maturation.
- Un compartiment pour les cellules sanguines circulantes ou « Circ »

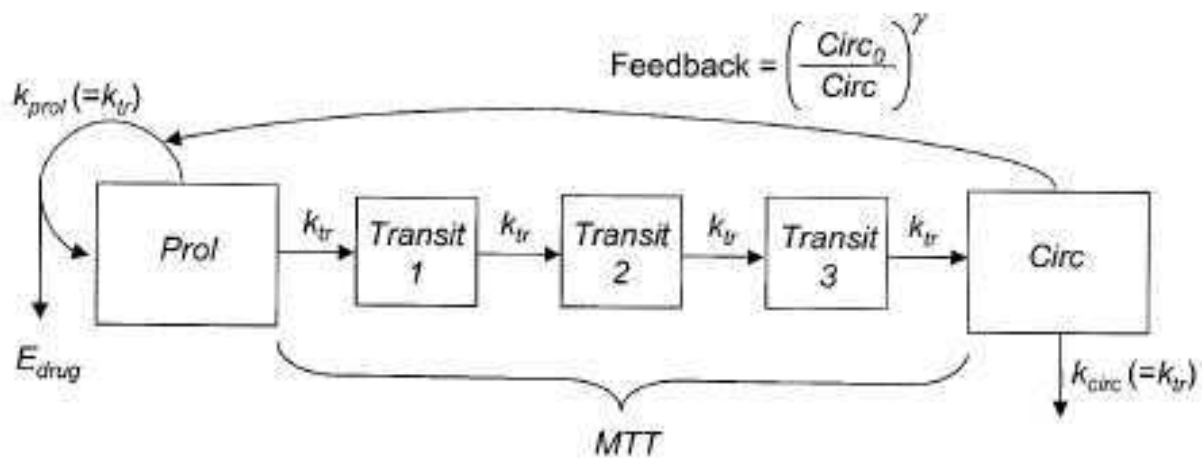


Figure 12 Structure du modèle PK-PD pour la myélosuppression induite par la chimiothérapie et mesurée par le taux sanguin des PNN.[73]

Ce type de modèle physiologique tente d'expliquer l'effet toxique observé en fonction de la chaîne de maturation hématopoïétique. En effet, les cellules les plus sensibles à l'action des chimiothérapies conventionnelles sont les précurseurs à activité mitotique (myéloblastes, promyélocytes et myélocytes) [74] alors que les autres cellules notamment les PNN n'y sont pas sensibles. Ceci explique le décalage

dans le temps de la survenue de la neutropénie par rapport à l'administration de la chimiothérapie.

Cela veut dire que le modèle, en prenant en compte cette maturation des cellules par des compartiments de transit et une constante de vitesse entre ces compartiments, permet de prédire le délai d'observation de l'effet hématotoxique par rapport au moment d'administration.

La formation de nouvelles cellules dans le compartiment PROL dépend :

- a. du nombre de cellules dans le compartiment, c'est-à-dire des mitoses ou du turn-over cellulaire décrit par une constante de prolifération ou taux de division cellulaire (K_{prol}) ;
- b. d'un rétrocontrôle (en anglais feed-back) exercé sur les cellules circulantes $(\text{Circ0} / \text{Circ})^\gamma$ dans le compartiment CIRC (avec une constante de vitesse K_{tr} ou K_{circ}) où γ (gg) représente une constante de sigmoïdité.

La prise en compte du rétrocontrôle permet de décrire le rebond cellulaire par rapport aux valeurs initiales Circo (valeurs de base). En effet, nous savons que le taux de prolifération cellulaire peut être affecté par des facteurs de croissance endogènes et des cytokines [75] et que le nombre de PN circulants et le taux des facteurs de croissance G-CSF sont inversement proportionnels [76]. Pour ce modèle différentes équations différentielles sont utilisées :

$$\text{DDT_PROL} = k_{\text{prol}} * \text{PROL} * \text{effNAV} * (\text{base} / \text{CIRC})^{**\text{gg}} - k_{\text{tr}} * \text{PROL}$$

$$\text{DDT_TR1} = k_{\text{tr}} * (\text{PROL} - \text{TR1})$$

$$\text{DDT_TR2} = k_{\text{tr}} * (\text{TR1} - \text{TR2})$$

$$\text{DDT_TR3} = k_{\text{tr}} * (\text{TR2} - \text{TR3})$$

$$\text{DDT_CIRC} = k_{\text{tr}} * (\text{TR3} - \text{CIRC})$$

La réduction du taux de prolifération ou la destruction cellulaire induite par la concentration du produit analysé en l'occurrence la vinorelbine, dans le compartiment central (CP) a été décrite par la fonction effNAV modélisée comme un modèle E_{MAX} qui est un modèle saturable:

$$\text{effNAV} = 1 - E_{MAX} * \text{CP} / (\text{CP} + \text{ic50})$$

où E_{MAX} représente l'effet maximal de la vinorelbine et ic50 représente la concentration de la vinorelbine produisant 50% de l'effet maximal.

Dans les compartiments de transit, seul le transfert cellulaire vers le compartiment suivant était considéré comme significatif. Étant donné que les cellules proliférantes se différencient en cellules plus matures, la concentration cellulaire est maintenue par la division cellulaire. Cela veut dire qu'à l'état d'équilibre :

$$\text{DDT_PROL} = 0 \text{ et donc } k_{\text{prol}} = k_{\text{tr}}$$

Pour minimiser le nombre de paramètres à estimer et afin de faciliter les calculs, on considère que $k_{\text{tr}} = k_{\text{circ}}$.

Ainsi les paramètres PD estimés par le modèle des PN sont : base (Circ0), k_{tr} , E_{max} , ic50, et γ (gg).

Neuf patientes ont reçu des facteurs de croissance hématopoïétiques, nous avons donc également testé l'effet de ces derniers sur la myélosuppression en utilisant les équations suivantes :

if (GCSF>0) then

$$\text{effg} = \text{gg_csf}$$

else

 effg = 1

end

DDT_PROL = ktr*PROL*effNAV*(base/TUMOR)**(gg*effg) - ktr*PROL

DDT_TR1 = ktr*(PROL - TR1)

DDT_TR2 = ktr*(TR1 - TR2)

DDT_TR3 = ktr*(TR2 - TR3)

DDT_CIRC = ktr*(TR3 - CIRC)

iii- Modèle statistique ou modèle d'erreur :

Nous avons choisi un modèle d'erreur exponentiel pour décrire les VII des paramètres estimés par le modèle. La valeur individuelle d'un paramètre PD (P_i), est alors estimée après le calcul de chaque variabilité de *TVP*. Pour cette raison, on parle de paramètres obtenus a posteriori.

La variabilité résiduelle a été calculée par un modèle additif (constant).

Tous les fichiers de pilotage des analyses (en anglais control stream) sont présentés dans les annexes 6, 7, et 8.

Afin de modéliser les relations PK-PD concernant l'effet de ces deux médicaments, nous avons tenté de construire un modèle PK-PD avec les données d'efficacité (réponses cliniques obtenues durant ce protocole) :

i) Modélisation de l'efficacité ;

ii- Modèle structurel

Nous avons construit deux modèles structurels avec les données de la vinorelbine et du Laptinib pour mesurer l'effet de ces deux molécules sur la croissance tumorale :

A- Le premier modèle PK-PD tente de relier ce schéma d'association à la dynamique de la croissance tumorale. Dans ce modèle la croissance tumorale a été considérée comme étant une variable continue plutôt que catégorielle car la catégorisation d'une variable continue peut causer la perte de certaines informations et par voie de conséquence une diminution de l'efficacité statistique [76].

Pour cela, nous avons utilisé un modèle PK-PD construit pour modéliser la cinétique de la croissance tumorale dans des modèles « Xenograft » après administration des agents anticancéreux [77].

Dans ce modèle les auteurs considèrent que la croissance tumorale est perturbée du fait du traitement anticancéreux qui rendrait certaines cellules non proliférantes et en conduirait d'autres jusqu'à la mort cellulaire.

Comme illustré par la figure 13, le schéma de ce modèle PK-PD est composé de :

- a. un compartiment qui représente la croissance tumorale en une phase exponentielle suivie d'une croissance linéaire.
- b. Plusieurs compartiments de transit qui caractérisent les différentes étapes de l'action anti proliférative du médicament conduisant les cellules endommagées de plus en plus vers la mort cellulaire.

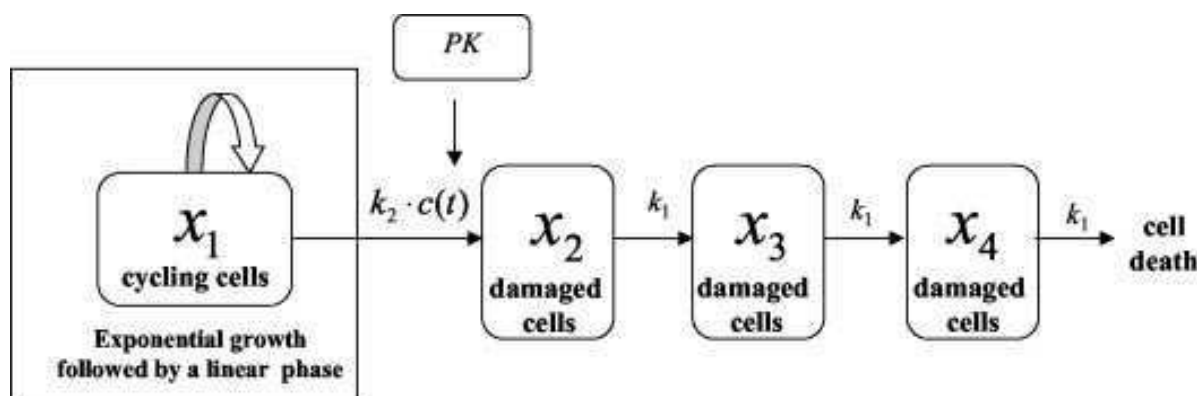


Figure 13 Schéma du modèle PK-PD caractérisant l'inhibition de la croissance tumorale

$x_1(t)$; La fraction des cellules prolifératives de la masse tumorale « $w(t)$ » à l'instant « t ».

$c(t)$; indique la concentration plasmatique de l'agent anticancéreux.

x_2 , x_3 , et x_4 ; les différentes étapes qui mènent les cellules endommagées jusqu'à la mort.

k_1 ; la constante de transit qui caractérise la cinétique de la mort cellulaire.

k_2 ; le paramètre qui caractérise l'efficacité du traitement.

Ce modèle suppose que le médicament provoque son effet sur le taux de croissance tumorale par un facteur proportionnel à $c(t) * x_1(t)$ à travers du paramètre constant k_2 .

Dans l'idée de construire un modèle du plus simple au plus complexe, nous avons testé plusieurs formes structurales :

- Modèle direct avec :

$$\text{Effet} = k_2 \times (1 + c(t))$$

- Modèle direct avec pente :

$$\text{Effet} = k_2 \times (1 + \text{slope} \times c(t))$$

- Modèle saturable E_{max} :

$$\text{Effet} = k_2 \times [(1 + c(t) \times E_{max}) / (c_{50} + c(t))]$$

B- un second modèle PK-PD qui prend en compte l'effet du médicament anticancéreux et celui de la résistance sur le dynamique de la croissance tumorale [78]. Ce modèle décrit la taille de la tumeur, mesurée selon les critères d'évaluation RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumor Group) [79, 80] en fonction du temps et de l'exposition au médicament (AUC ou ASC). Il est basé sur la croissance tumorale, l'action du médicament, et le processus de résistance qui décrit la repousse tumorale.

L'équation différentielle permettant de décrire ce modèle est :

$$dy(t) / dt = k_g * y(t) - k_d * AUC * y(t) * resist$$

$$resist = e^{-\lambda t}$$

avec :

- $y(t)$: la taille de la tumeur au temps t .
- k_g : le taux de croissance tumorale.
- k_d : le taux de destruction cellulaire lié au médicament.
- $resist$: la fonction de résistance.
- λ : la constante du taux de résistance.

Afin de faciliter les calculs et raccourcir le temps d'analyse nous avons choisi de prendre en compte le pourcentage de changement de taille de la tumeur par rapport au temps de base (mesure de la taille tumorale avant le traitement) et de calculer l'ASC selon les intervalles d'administration de la vinorelbine à chaque cycle.

Dans l'idée de construire un modèle du plus simple au plus complexe, nous avons testé plusieurs formes structurales :

- Modèle de base sans la prise en compte de la PK individualisée.
- Modèle de base avec PK individualisée.
- Modèle de base avec PK individualisée et vérification de l'effet du lapatinib soit comme covariable continue soit en tant que covariable catégorielle sur les différents paramètres PD (k_g , k_d , resist) du système.

Tous les fichiers de pilotage des analyses (en anglais control stream) sont présentés en annexes 9 et 10.

iii- Modèle statistique ou modèle d'erreur :

Nous avons choisi un modèle d'erreur exponentiel pour décrire les VII des paramètres estimés par le modèle. La valeur individuelle d'un paramètre PD (P_i), a alors été estimée après le calcul de chaque variabilité de *TVP*. Pour cette raison, on parle de paramètres obtenus a posteriori.

Nous avons testé plusieurs modèles d'erreur ; additif, proportionnel, et combiné pour calculer la variabilité résiduelle.

III- RÉSULTATS

III.1- Patientes

De Août 2007 à Mars 2010, 33 patientes sont incluses dans ce protocole clinique dont 29 ont eu une analyse PK. 115 concentrations sanguines sont mesurées pour la vinorelbine et 169 concentrations plasmatiques sont déterminées pour le lapatinib. Les caractéristiques des patientes sont résumées dans le tableau 3 (les caractéristiques cliniques des patientes sont présentées en annexe 11).

<i>Paramètre</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Median</i>	<i>Min-Max</i>
<i>Âge (années)</i>	<i>59</i>	<i>57</i>	<i>37 - 76</i>
<i>Taille (cm)</i>	<i>160</i>	<i>161</i>	<i>142 – 176</i>
<i>Poids (kg)</i>	<i>65</i>	<i>62</i>	<i>45 – 110</i>
<i>Masse maigre (kg)</i>	<i>44</i>	<i>44</i>	<i>34 – 60</i>
<i>Poids idéal (kg)</i>	<i>53</i>	<i>53</i>	<i>36 – 66,5</i>
<i>Indice de masse corporelle (kg/m²)</i>	<i>25,1</i>	<i>24</i>	<i>18,7 – 39</i>
<i>Surface corporelle (m²)</i>	<i>1,67</i>	<i>1,62</i>	<i>1,40 – 2,22</i>
<i>Sérum créatinine (μM)</i>	<i>62</i>	<i>62</i>	<i>47</i>
<i>Plaquettes (x 10³/mm³)</i>	<i>294</i>	<i>271</i>	<i>151 – 539</i>

Tableau 3

III.2- Dosage sanguin de la vinorelbine

Afin de mesurer les concentrations sanguines de la vinorelbine, une gamme d'étalonnage est construite entre les concentrations 10 ng/mL (limite inférieure de quantification de la technique) et 2000 ng/mL (limite supérieure de la quantification) en surchargeant du sang total obtenu à partir de volontaires sains avec des quantités appropriées de vinorelbine.

La linéarité de la courbe d'étalonnage est mesurée par le coefficient de corrélation de la droite de régression (r). Cette courbe d'étalonnage a été validée pour chaque dosage avec une valeur de $r \geq 0,99$.

Les résultats des exactitudes et précisions intra-essais des dosages sont présentés dans les tableaux 5 et 6. Ces résultats sont calculés à partir des concentrations observées des contrôles de qualité (CQ) lors d'une même analyse (cf. Tableau 4.).

	CQ-12,5 (ng/mL)	CQ-300 (ng/mL)	CQ-750 (ng/mL)	CQ-1500 (ng/mL)
CQ-1	12,6	327	761	1289
CQ-2	16,2	336	847	1405
CQ-3	12,4	337	664	1665
CQ-4	14,1	352	672	1721
CQ-5	12,3	341	646	1417

Modality	Sample size	Mean	s.d.	Median	Min / Max
CQ-12,5	5	13,5	1,67	12,6	12,3 / 16,2
CQ-300	5	339	9,07	337	327 / 352
CQ-750	5	718	84,7	672	646 / 847
CQ-1500	5	1499	184,7	1417	1289 / 1721

Mean : Moyenne, s.d: écart type

Tableau 4 Résultats des concentrations observées des CQ intra-essai

L'exactitude de la technique est calculée selon la formule suivante :

$$\text{RE\%} = [(\text{moyenne observée-valeur théorique} / \text{valeur théorique})] \times 100$$

La précision de la technique est calculée par le coefficient de variation selon la formule suivante :

$$\text{CV\%} = [(\text{écart-type} / \text{moyenne})] \times 100$$

<u>EXACTITUDE INTRA-ESSAI</u>		
Modalité	Nb échantillon	ER%
CQ-12,5	5	8,16
CQ-300	5	13
CQ-750	5	-4,27
CQ-1500	5	-0,07

Tableau 5 Résultats de l'exactitude de la technique obtenus lors d'une même analyse

<u>PRÉCISION INTRA-ESSAI</u>		
Modalité	Nb échantillon	CV%
CQ-12,5	5	12,3
CQ-300	5	2,67
CQ-750	5	11,8
CQ-1500	5	12,3

Tableau 6 Résultats de la précision de la technique obtenus lors d'une même analyse ;

Les tableaux 8 et 9 présentent les résultats de l'exactitude et la précision inter-essais de la technique de dosage. Ces résultats ont été calculés à partir des concentrations observées des contrôles de qualité (CQ) lors de 6 analyses (cf. Tableau 7.).

CQ-12,5 (ng/mL)	CQ-300 (ng/mL)	CQ-750 (ng/mL)	CQ-1500 (ng/mL)
12,2	316,5	854,1	1210
11	330,9	848,8	1312
12,1	344,2	851,4	1405
14,7	363,9	805,6	1665
11,8	307,5	848,8	1599
12,1	361,3	816,8	1450

Modalité	Nb échantillon	Moyenne	E.T	Médian	Min / Max
CQ-12,5	6	12,3	1,248	12,1	11 / 14,7
CQ-300	6	337,4	23,21	337,6	307,5 / 363,9
CQ-750	6	837,6	20,83	848,8	805,6 / 854,1
CQ-1500	6	1440	171,2	1428	1210 / 1665

Tableau 7 Résultats des concentrations des contrôles de qualité (CQ) obtenues par 6 analyses indépendantes (6 jours différents)

<u>EXACTITUDE INTER-ESSAIS</u>		
Modalité	Nb échantillon	ER%
CQ-12.5	6	-1,44
CQ-300	6	12,5
CQ-750	6	11,7
CQ-1500	6	-4

Tableau 8 Résultats de l'exactitude inter-essais de la technique de dosage

<u>PRÉCISION INTER-ESSAIS</u>		
Modalité	Nb échantillon	CV%
CQ-12.5	6	10,1
CQ-300	6	6,88
CQ-750	6	2,49
CQ-1500	6	11,9

Tableau 9 Résultats de la précision inter-essais de la technique de dosage

III.3- Dosage plasmatique du lapatinib

Afin de mesurer les concentrations plasmatiques du lapatinib, une gamme d'étalonnage est construite entre les concentrations 10 ng/mL (limite inférieure de quantification de la technique) et 2000 ng/mL (limite supérieure de la quantification) en surchargeant du plasma humain obtenu à partir des volontaires sains avec des quantités appropriées du lapatinib.

Du fait des concentrations très élevées du lapatinib observées chez les patientes, nous sommes obligés d'adapter le gamme d'étalonnage en augmentant la limite supérieure de la quantification à 10000 ng/mL.

La linéarité de la courbe d'étalonnage est mesurée par le coefficient de corrélation de la droite de régression (r). Cette courbe d'étalonnage est validée pour chaque dosage avec une valeur de $r \geq 0,99$.

Les résultats des exactitudes et précisions intra-essais des dosages sont présentés dans les tableaux 11 et 12. Ces résultats sont calculés à partir des concentrations observées des contrôles de qualité (CQ) lors d'une même analyse (cf. Tableau 9.).

	CQ-15 (ng/mL)	CQ-750 (ng/mL)	CQ-1500 (ng/mL)	CQ-7500(ng/mL)
CQ-1	12,3	736	1686	NR
CQ-2	13,3	664	1609	NR
CQ-3	11,5	646	1998	NR
CQ-4	12,6	717	1440	NR
CQ-5	17,4	777	1442	NR

NF : Non Réalisé

Modalité	Nb échantillon	Moyenne	E.T	Médian	Min / Max
CQ-15	5	13,4	2,32	12,6	11,5 / 17,4
CQ-750	5	708	53,4	672	646 / 777
CQ-1500	5	1635	229,3	1609	1440 / 1998

Tableau 10 Résultats des concentrations observées des CQ intra-essai

<u>EXACTITUDE INTRA-ESSAI</u>		
Modalité	Nb échantillon	ER%
CQ-15	5	-10,7
CQ-750	5	-5,6
CQ-1500	5	9

Tableau 11 Résultats de l'exactitude de la technique obtenus lors d'une même analyse

<u>PRÉCISION INTRA-ESSAI</u>		
Modalité	Nb échantillon	CV%
CQ-15	5	17,5
CQ-750	5	7,5
CQ-1500	5	15

Tableau 12 Résultats de la précision de la technique obtenus lors d'une même analyse

Les tableaux 14 et 15 présentent les résultats de l'exactitude et la précision inter-essais de la technique de dosage. Ces résultats sont calculés à partir des concentrations observées des contrôles de qualité (CQ) lors de 6 analyses (cf. Tableau 13.).

CQ-15 (ng/mL)	CQ-200 (ng/mL)	CQ-1500 (ng/mL)	CQ-7500(ng/mL)
18,6	176	1515	7945
12,3	168	1379	8045
12,1	193	1512	8070
17,2	172	1687	8544
13,3	220	1686	8063

Modalité	Nb échantillon	Moyenne	E.T	Médian	Min / Max
CQ-15	5	14,7	2,99	13,3	12,1 / 18,6
CQ-200	5	186	21,4	176	168 / 220
CQ-1500	5	1556	131	1515	1379 / 1687
CQ-7500	5	8133	235	8063	7945 / 8544

Tableau 13 Résultats des concentrations des contrôles de qualité (CQ) obtenues par 6 analyses indépendantes (6 jours différents)

<u>EXACTITUDE INTER-ESSAIS</u>		
Modalité	Nb échantillon	ER%
CQ-15	5	-2
CQ-200	5	-7
CQ-1500	5	3,7
CQ-7500	5	8,4

Tableau 14 Résultats de l'exactitude inter-essais de la technique de dosage

<u>PRÉCISION INTER-ESSAIS</u>		
Modalité	Nb échantillon	CV%
CQ-15	5	20,3
CQ-200	5	11,5
CQ-1500	5	8,42
CQ-7500	5	2,89

Tableau 15 Résultats de la précision inter-essais de la technique de dosage

En conclusion, les valeurs des précisions et exactitudes inter et intra-essais s dans les limites fixées par les recommandations de la Food and Drug Administration (FDA, CRF 21), et des Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) c'est-à-dire : moins de 20% pour le CQ bas et moins de 15% pour les autres. Par conséquent les deux méthodes de dosage sont validées.

III.4- Analyse Pharmacocinétique

III.4.1- La vinorelbine

Nous avons construit le modèle du plus simple au plus complexe en prenant en compte l'effet de chaque covariable, afin de pouvoir choisir le modèle qui décrivait au mieux les concentrations observées dans ce protocole.

Le tableau 16 (page 78) montre les différentes étapes utilisées dans la construction du modèle final avec tout d'abord le modèle de base (sans covariable) et ensuite l'analyse unifactorielle et le modèle final (avec toutes les covariables).

En effet, la PK de la vinorelbine est mieux décrite par un modèle tri-compartmental avec un effet significatif du poids et du nombre des plaquettes sur la CL de la vinorelbine. Parmi toutes les covariables testées seuls le poids et le nombre des plaquettes se justifient dans le modèle.

Ce modèle donne les meilleures valeurs des critères AIC et BIC avec une très bonne précision des estimations des paramètres PK.

L'étude de l'effet du lapatinib, comme covariable catégorielle (avec le palier 750 mg de lapatinib comme le palier de référence), sur la CL de la vinorelbine n'a pas amélioré la valeur des critères AIC et BIC.

La vérification graphique de l'ajustement du modèle (Goodness of fit) nous a permis de comparer les observations et les prédictions [68] et d'évaluer le modèle final.

La figure 14. (page 79) montre l'amélioration de l'ajustement entre les concentrations observées et les prédictions de population entre le modèle de base et le modèle final (avec l'effet des covariables). Cela nous confirme le choix du modèle final.

La figure 15. (page 80) montre l'excellente corrélation entre les concentrations observées et celles prédites par le modèle qu'il s'agisse de prédictions des concentrations individuelles ou de valeurs moyennes prédites pour la population étudiée. Ainsi les données se distribuent de manière optimale autour de la droite d'identité (tracé rouge). Le graphique des NPDE (normalized prediction distribution errors) versus temps ou en fonction des prédictions du modèle valide le modèle final. En effet, la valeur de la moyenne et celle de la variance ne sont pas significativement différentes de 0 et 1 respectivement (test de Wilcoxon et de Fisher $p=0,99$ et $p=0,51$) pour une distribution normale (test de normalité de Shapiro ; $p=0,77$).

Nous avons validé notre modèle final par *une vérification visuelle de la qualité prédictive du modèle* (en anglais » *Visual Predictive Checks* » ou VPC).

La figure 16 (page 81) montre la validation interne du modèle avec 400 répliques (simulations) et un intervalle de confiance bilatéral à 90%.

Le choix du modèle final de PK de Population nous a permis d'obtenir les paramètres PK de la vinorelbine dans cette population de 29 patientes.

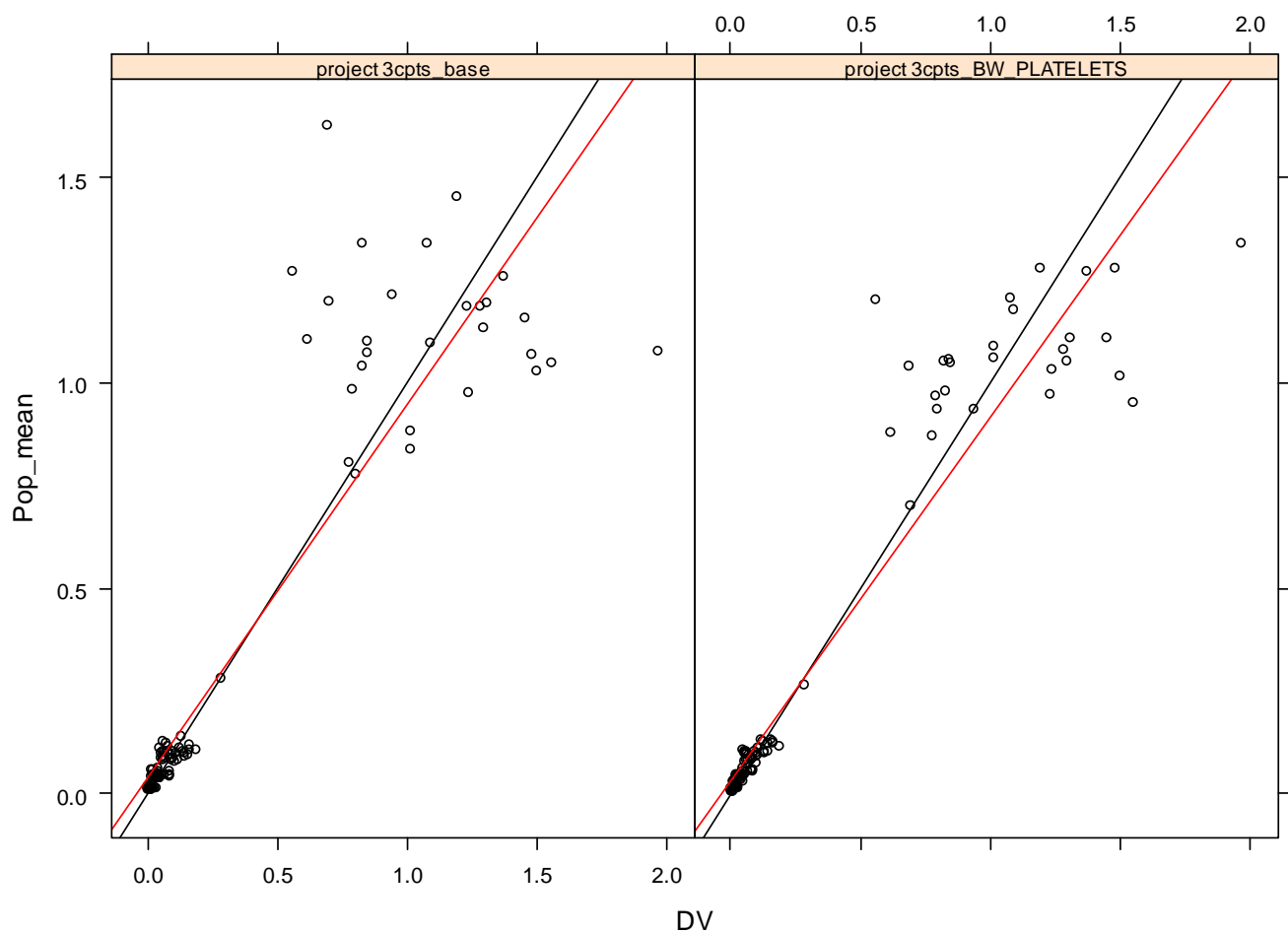
Les paramètres estimés pour la vinorelbine sont présentés dans le tableau 17 (page 82).

Ce modèle PK a déjà été utilisé pour estimer les paramètres PK de population de la vinorelbine en particulier sa CL, pour comparaison, le tableau 18 (page 83) représente les valeurs des paramètres estimés à partir de notre population de patientes et celles obtenues par les études de Khayat et al et Nguyen et al. [24, 38]. Quelques exemples de l'évolution des concentrations sanguines ($\mu\text{g/L}$) de la vinorelbine en fonction du temps (h) sont présentés en annexe 12. On peut noter l'excellente adéquation entre les concentrations observées et les prédictions individuelles et de population.

Model	paramètres	AIC / BIC
A.Modèle 2-compartiment Classique de base	CL, V1, Q2, V2 η_{Q2}, η_{V2} , fixés à 0	-437 / -427
B.Modèle 3-compartiment Classique de base	CL, V1, Q2, V2, Q3, V3 $\eta_{Q2}, \eta_{V2}, \eta_{Q3}$ fixés à 0 corrélacion entre η_{CL} and η_{V1} $\eta^2(CL+V1+V2) = 2,24$	-458 / -443
C.Effet du poids idéal (IBW)	$CL = TVP*(IBW/70)^{0,75}$ $V = TVP*(IBW/70)^1$ $\eta^2(CL+V1+V2) = 1,71$	-459 / -444
D.Effet de la masse maigre (LBM)	$CL = TVP*(LBM/60)^{0,75}$ $V = TVP*(LBM/60)^1$ $\eta^2(CL+V1+V2) = 1,49$	-468 / -453
E.Effet du poids (BW)	$CL = TVCL*(BW/70)^{0,75}$ $V = (BW/70)^1$ $\eta^2(CL+V1+V2) = 1,38$	-475 / -460
F.Effet du poids + Effet du nombre des plaquettes sur la CL	$CL = TVCL*(PLAT/250)^\beta *(BW/70)^{0,75}$ $\eta^2(CL+V1+V2) = 1,06$	-478 / -461
G.Effet du poids + Effet du nombre des plaquettes sur la CL + a.Effet du nombre des plaquettes sur le V1 b.ou V2	$CL = TVCL*(PLAT/250)^{\beta_{CL}} *(BW/70)^{0,75}$ $V1 = TVV1*(PLAT/250)^{\beta_{V1}} *(BW/70)^1$ or $V2 = TVV2*(PLAT/250)^{\beta_{V2}} *(BW/70)^1$	a. -478 / -460 b. -476 / -459
H. Effet du poids +Effet du lapatinib, effet categoriel	référence TVCL pour 750 mg lapatinib et un poids de 70 kg $CL = TVCL*\beta_{LAP1000mg}$ $CL = TVCL*\beta_{LAP1250mg}$	-477 / -459

Légendes: η , représente la VII ; AIC, Akaike information criterion / BIC, Bayesian information criterion ; $\eta^2(CL+V1+V2)$ la somme des variances interpatients (η^2 s) pour la CL et le V.

Tableau 16 Les différentes étapes de construction du modèle PK de la vinorelbine



Item	r	biais	précision
project 3cpts_base	0,915	-0,01	0,194
project 3cpts_BW_Plaquettes	0,954	0,005	0,142

Figure 14. Corrélation entre les concentrations observées de la vinorelbine (DV), versus les prédictions du modèle, par la moyenne de la population sur une échelle logarithmique (le modèle de base sans covariable, versus le modèle final).

Panneau de gauche le modèle sans covariable; panneau de droite, le modèle final avec l'effet du poids sur la CL et le V plus l'effet du nombre des plaquettes sur la CL d'élimination

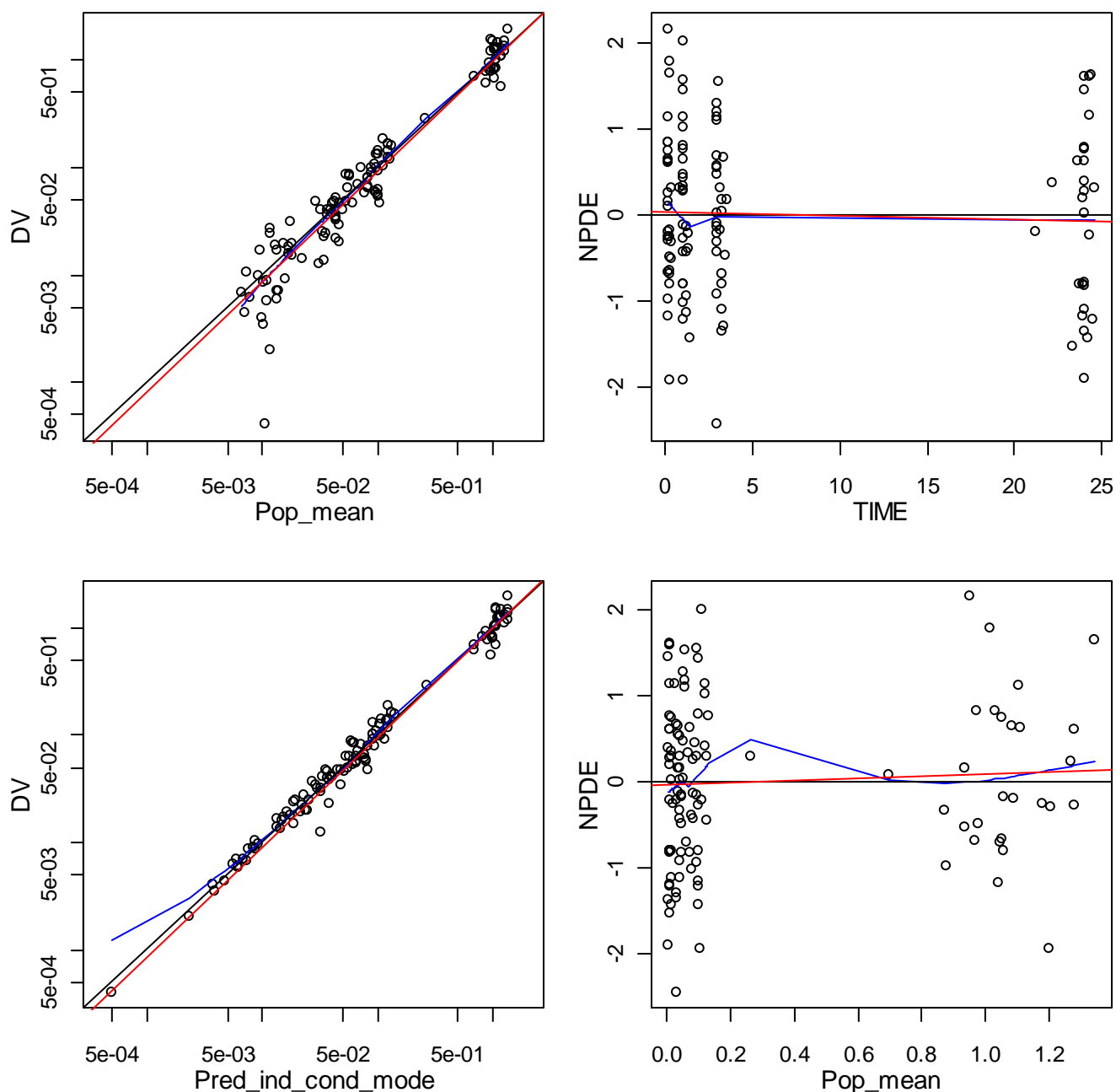


Figure 15. Représentation de l'ajustement des données pour le modèle final de la vinorelbine.

Les concentrations observées de la vinorelbine, (DV), versus les prédictions du modèle (Pop_mean) et les prédictions individuelles, (Pred_ind_cond_mode) sur une échelle logarithmique.

Normalized prediction distribution errors (NPDE, moyenne=0, variance=1) versus temps et les prédictions du modèle

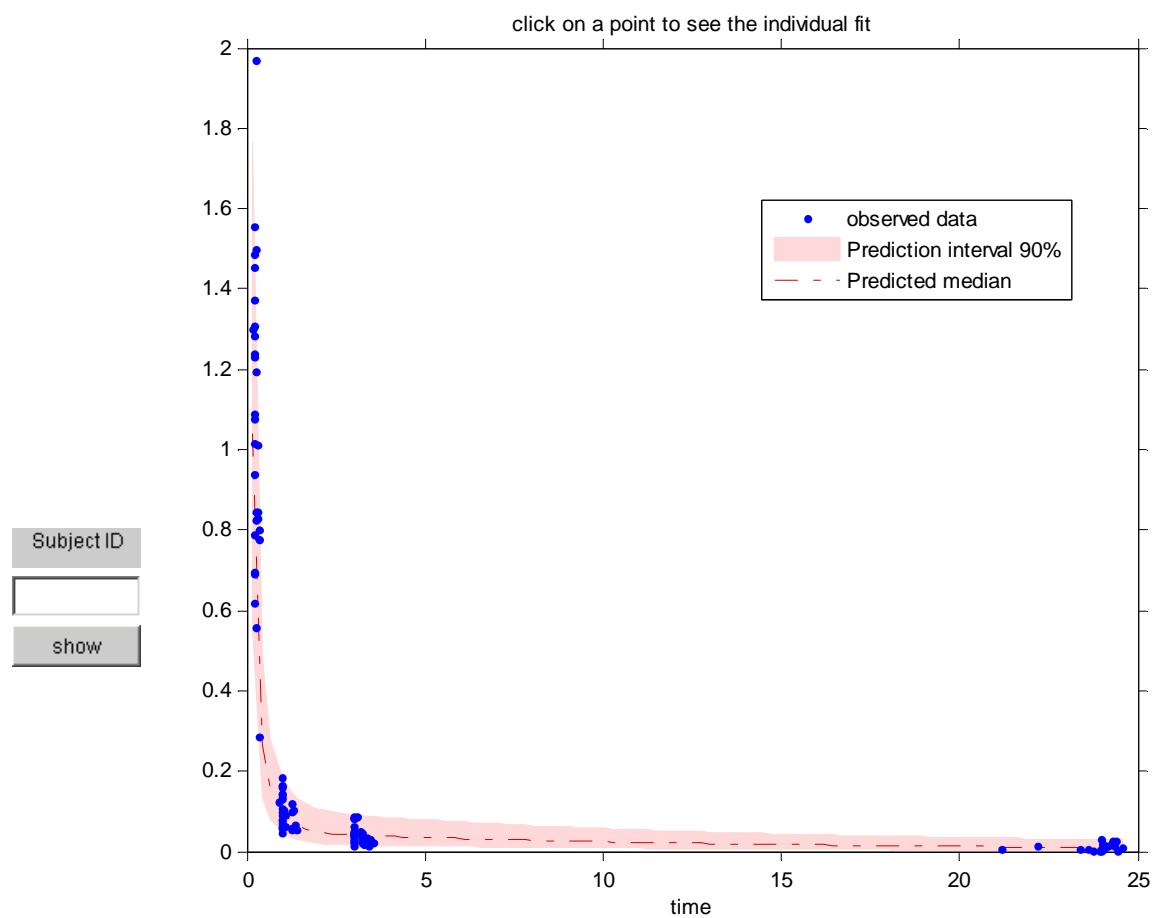


Figure 16 Vérification visuelle de la qualité prédictive du modèle pour les concentrations sanguines de la vinorelbine en fonction du temps (h), avec un intervalle de confiance bilatéral à 90%.

Paramètre	Effet du Covariable	Estimation (ers%)	VII (%rse)
CL, L h ⁻¹ 70 kg ⁻¹ pour 250000 plaquettes/mm ³	(BW/70) ^{3/4} (Plaquettes/250,000) ^β	24,9 (22) -1,1 (42)	0,506 (18)
V1 , L 70 kg ⁻¹	(BW/70) ¹	8,48 (24)	0,458 (31)
Q2 , L h ⁻¹ 70 kg ⁻¹	(BW/70) ^{3/4}	50,7 (8)	NA
V2 , L 70 kg ⁻¹	(BW/70) ¹	1320 (32)	0,874(18)
Q3 , L h ⁻¹ 70 kg ⁻¹	(BW/70) ^{3/4}	66,1 (10)	NA
V3 , L 70 kg ⁻¹	(BW/70) ¹	62,4 (10)	NA
Variabilité résiduelle., proportionnelle	NA	0,236 (9)	NA

Légendes: ers% (erreur relative standard en pourcentage); VII, variabilité inter individuelle (η) ; CL and Q, clairances d'élimination et inter-compartmental ; Vn, volumes de distribution central et périphérique; NA, non applicable.

Tableau 17 Paramètres pharmacocinétiques de population de la vinorelbine en association avec du lapatinib 750-1250 mg chez 29 patientes. Les paramètres sont normalisés pour une patiente de 70 kg selon l'échelle allométrique.

<div> <div>Études</div> <div>Paramètre PK</div> </div>	Notre étude Moyenne (ers%)	Khayat et al. Moyenne (ers%)	Puozzo et al. Moyenne (ers%)	Nguyen et al. Moyenne (ers%)
CL, L*h ⁻¹ *70kg ⁻¹	24,9 (22)	44,8 (26)	46,2 (23)	39,4 (5)

ers%, erreur relative standard en pourcentage.

Tableau 18 Comparaison des valeurs moyennes (ers%) de la clairance du modèle structural PK obtenue par notre étude et celle des autres études.

III.4.2- Le lapatinib

Nous avons testé plusieurs modèles PK du plus simple au plus complexe (modèle mono-compartmental à tri-compartmental) avec élimination d'ordre un. Nous avons également testé l'influence des différentes covariables sur les paramètres PK du lapatinib.

Le tableau 19, (page 86) montre les différentes étapes utilisées dans la construction du modèle final avec tout d'abord le modèle de base (sans covariable) et ensuite l'analyse unifactorielle et le modèle final (avec toutes les covariables).

Le modèle qui décrit le mieux l'évolution des concentrations plasmatiques observées du lapatinib en fonction du temps est un modèle mono-compartmental avec élimination d'ordre un. Nous n'avons observé aucun effet significatif des covariables testés « le poids, le poids idéal, la surface corporelle, et la taille » sur les paramètres PK du lapatinib.

Nous avons également considéré l'effet de la vinorelbine comme covariable catégorielle avec le palier 20 mg/m² comme palier de référence, sur ces paramètres PK. Aucun effet significatif de la vinorelbine n'est observé.

Compte tenu des meilleures valeurs des critères AIC et BIC avec une très bonne précision des estimations des paramètres PK, le modèle mono-compartmental est choisi pour décrire la PK du lapatinib.

Le graphique (figure 17) des NPDE (normalized prediction distribution errors) versus temps ou en fonction des prédictions du modèle valide le modèle final. En effet, la valeur de la moyenne et celle de la variance ne sont pas significativement différentes de 0 et 1 respectivement (test de Wilcoxon et de Fisher $p=0,79$ et $p=0,22$) pour une distribution normale (test de normalité de Shapiro, $p=0,36$).

Nous avons également validé notre modèle final par *une vérification visuelle de la qualité prédictive du modèle* (en anglais » *Visual Predictive Checks* » ou *VPC*) après 400 simulations internes.

La figure 18 représente les résultats de la vérification visuelle de la qualité prédictive pour le modèle PK de population final pour les concentrations plasmatiques du lapatinib aux paliers 1000 et 1250 mg. Les proportions des observations en dehors des courbes (5ème et 95ème percentile) de prédictions du modèle ne sont pas significativement différentes de 10%.

Le choix du modèle final de PK de Population nous a permis d'obtenir les paramètres PK du lapatinib dans cette population de 29 patientes.

Les paramètres estimés pour le lapatinib sont présentés dans le tableau 20 (page 89).

Ce modèle PK a déjà été utilisé pour estimer les paramètres PK de population du lapatinib, pour comparaison, le tableau 21 (page 89) présente les valeurs des paramètres estimés à partir de notre population de patientes et celles obtenues par l'étude de [52].

Quelques exemples de l'évolution des concentrations plasmatiques ($\mu\text{g/L}$) du lapatinib en fonction du temps (h) sont présentés en annexe 13. On peut noter l'excellente adéquation entre les concentrations observées et les prédictions individuelles et de population.

Model	paramètres	AIC / BIC
A.Modèle 1-compartiment Classique de base	Ka, CL, V1, η_{ka} fixé à 0 $\eta^2(CL+V1) = 0,53$	409 / 419
B.Modèle 2-compartiment Classique de base	Ka, CL, V1, Q2, V2, η_{ka} fixé à 0 corrélacion entre η_{CL} and η_{V1} $\eta^2(CL+V1) = 0,92$	419 / 434
C.Modèle 3-compartiment Classique de base	Ka, CL, V1, Q2, V2, Q3, V3, $\eta_{ka}, \eta_{Q3}, \eta_{V3}$, fixés à 0 corrélacion entre η_{CL} and η_{V1} $\eta^2(CL+V1) = 0,39$	535 / 552
C.Effet du poids idéal (IBW)	$CL = TVP*(IBW/70)^{0,75}$ $V = TVP*(IBW/70)^1$ $\eta^2(CL+V1) = 0,52$	425 / 434
E.Effet du poids (BW)	$CL = TVCL*(BW/70)^{0,75}$ $V = (BW/70)^1$ $\eta^2(CL+V1) = 0,57$	425 / 435
H. Modèle 1-compartiment +Effet de la vinorelbine, effet categoriel	référence TVCL pour 20 mg/m ² vinorelbine $CL = TVCL*\beta_{LAP1000mg}$ $CL = TVCL*\beta_{LAP1250mg}$	423 / 436

Tableau 19 Les différentes étapes de construction du modèle PK du lapatinib

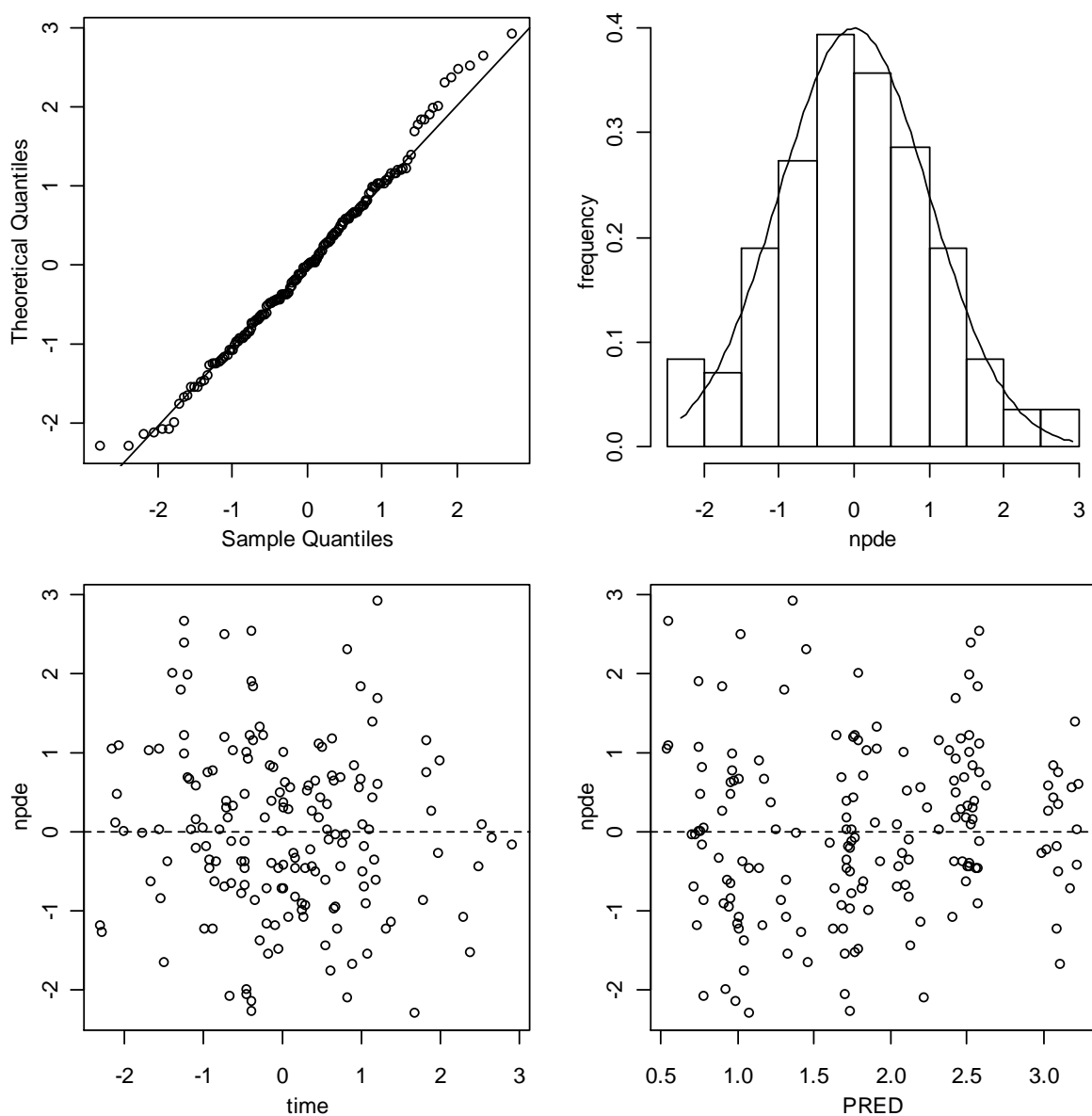


Figure 17. Courbes de diagnostique du modèle final de PK-Pop du lapatinib ; les concentrations observées versus les prédictions du modèle et Normalized prediction distribution errors (NPDE, moyenne=0, variance=1) versus temps et les prédictions du modèle.

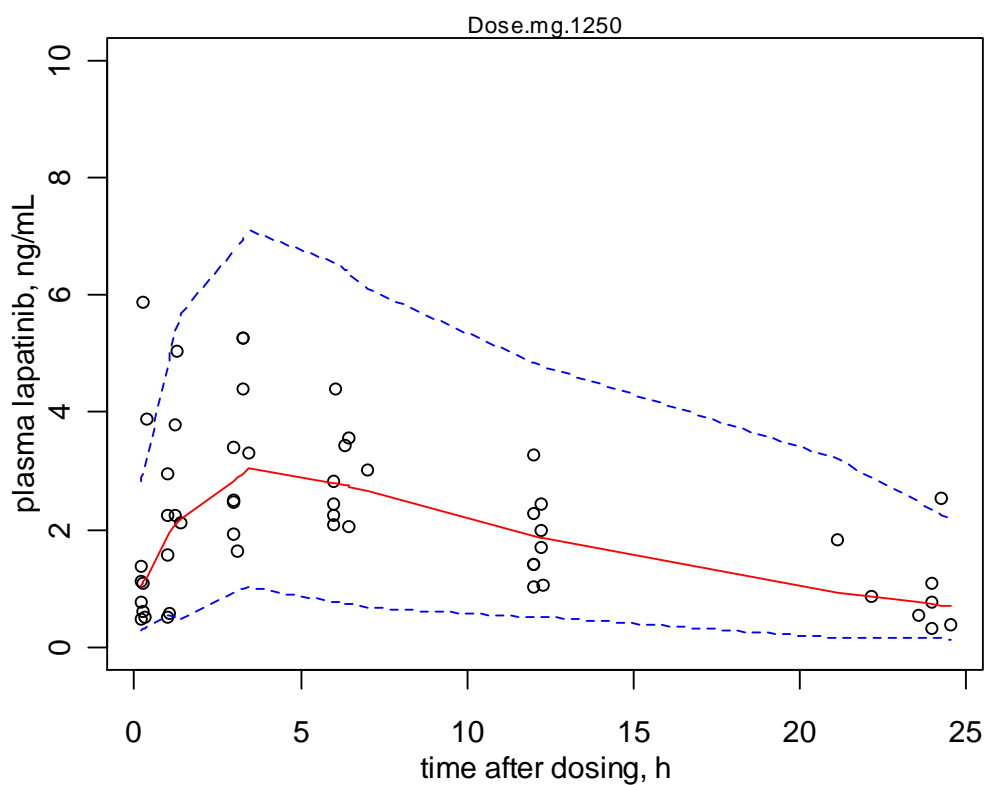
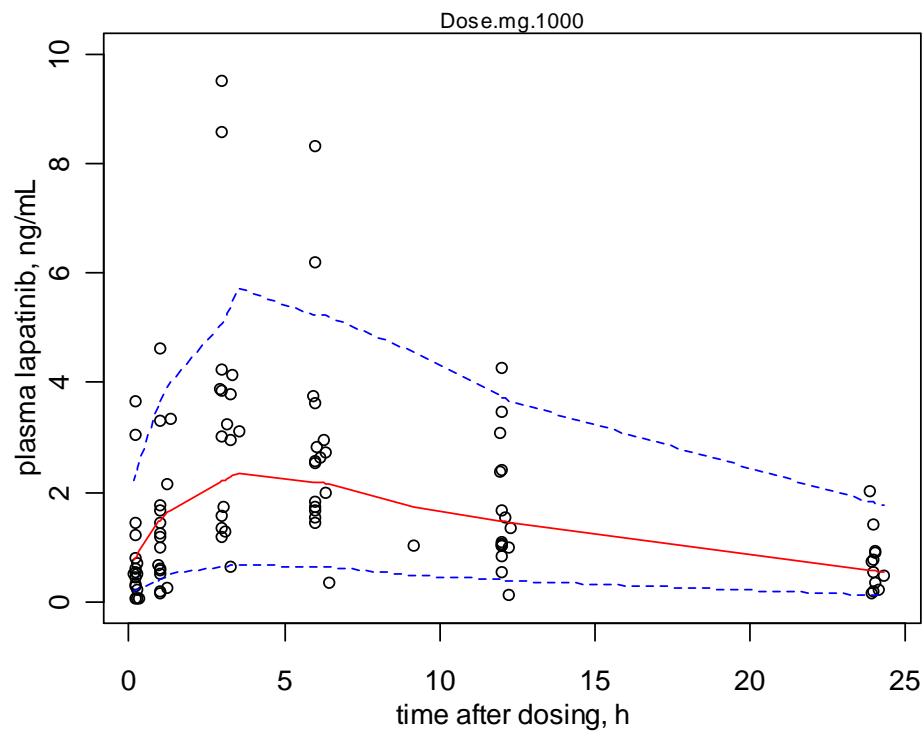


Figure 18. Vérification visuelle de la qualité prédictive du modèle pour les concentrations plasmatiques du lapatinib en fonction du temps (h), avec un intervalle de confiance bilatéral à 90%.

Paramètre	Estimation (ers%)	VII (ers%)
CL/F, L h ⁻¹	27,7 (18)	0,63 (9)
V/F, L	357 (13)	0,37 (19)
Ka, h ⁻¹	0,44 (18)	NA
Variabilité résiduelle, prop.	0,412 (7)	NA

Légendes : ers%, erreur relative standard en pourcentage ; VII, variabilité inter patientes (η) ; CL/F and V/F, CL et volume de distribution apparents, F étant le facteur de biodisponibilité inconnue; NA, non applicable.

Tableau 20 Paramètres PK du lapatinib estimé pour le modèle de population final chez 29 patientes.

Paramètre PK \ Études	Notre étude Moyenne (ers%)	Thiessen et al. Moyenne (ers%)
CL/F, L*h ⁻¹ *m ⁻²	16,3 (18)	12,1 (26)
Vd/F, L*m ⁻²	210 (13)	124 (42)
ka, h ⁻¹	0,259 (18)	0,124 (31)

Tableau 21 Comparaison des valeurs moyennes (ers%) des paramètres PK du lapatinib du modèle structural PK obtenus par notre étude et celle de Thiessen et al [52]

Cette première partie du travail a fait l'objet d'une publication internationale intégrée dans ce document et une présentation sous forme de poster :

1- Pharmacokinetic evaluation of the vinorelbine-lapatinib combination in the treatment of breast cancer patients. [81]

2- GEP01: a phase I pharmacokinetic study of lapatinib and iv vinorelbine in the treatment of HER2-positive locally advanced or metastatic breast cancer [82]

Pharmacokinetic evaluation of the vinorelbine–lapatinib combination in the treatment of breast cancer patients

Keyvan Rezaei · S. Urien · N. Isambert ·
H. Roche · V. Dieras · J. Berille · J. Bonneterre ·
E. Brain · F. Lokiec

Received: 14 February 2011 / Accepted: 10 April 2011 / Published online: 26 April 2011
© Springer-Verlag 2011

Abstract

Purpose The objectives of this study were to investigate the pharmacokinetics of intra-venous vinorelbine combined with lapatinib as well as the effect of covariates in breast cancer patients.

Methods Women with HER2 + locally advanced or metastatic breast cancer progressing after ≤ 2 lines of trastuzumab-based treatment were treated with lapatinib per os starting 7 days (D) (D-7 to D0) before adding vinorelbine on a D1 & D8 every 3 weeks intravenous

schedule. Lapatinib was given everyday. Dose levels [DL, lapatinib (mg)/vinorelbine (mg/m²)] ranged from 750/20 to 1,250/25. A total of 29 patients, 37–76 years old, were treated with the combination of lapatinib + vinorelbine. For pharmacokinetic analysis, 7 time point samples were collected on D1 of cycle 1 for lapatinib and vinorelbine assays. For vinorelbine and lapatinib, respectively, whole blood and plasma concentrations were measured using ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry validated methods. Data analysis was performed using a non-linear mixed effect model program (Monolix version 3.1 s).

Results A three-compartment open model adequately described vinorelbine pharmacokinetics. Body weight (BW) and platelet count significantly influenced blood vinorelbine clearance (CL). BW significantly influenced volume (V) and CL terms. Platelet count influenced vinorelbine elimination CL. The final parameter estimates were as follows: CL = 24.9 L/h, V1 = 8.48 L, Q2 = 50.7 L/h, V2 = 1,320 L, Q3 = 66.1 L/h, and V3 = 62.4 L (Q_i and V_i denote inter-compartmental clearance and peripheral volume of distribution, respectively), normalized for a 70-kg patient according to BW allometric scaling (CL is normalized for a 250,000 platelet count). A one-compartment model with linear elimination adequately fitted the lapatinib plasma concentration–time data. The population pharmacokinetic parameters were CL = 27.7 L/h, V = 357 L, and the absorption constant, $k_a = 0.44 \text{ h}^{-1}$. The between-subject variabilities (BSV) could be well estimated for CL, V but not for k_a . No covariate effect, including body surface area and vinorelbine dosage, could be identified for lapatinib.

Conclusions The pharmacokinetic modeling of vinorelbine and lapatinib was consistent with the results previously reported. BW and platelet count were confirmed as

K. Rezaei and S. Urien contributed equally to this work and are considered as first author.

K. Rezaei (✉) · S. Urien · E. Brain · F. Lokiec
Institut Curie-Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France
e-mail: keyvan.rezaei@curie.net

S. Urien
EA-3620, Université Paris Descartes, Paris, France

N. Isambert
Centre Georges-François Leclerc, Dijon, France

N. Isambert
Centre d'Investigation Clinique Plurithématique
Unité INSERM U803, Dijon, France

H. Roche
Institut Claudius Regaud, Toulouse, France

V. Dieras
Institut Curie, Paris, France

J. Berille
Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer,
Paris, France

J. Bonneterre
Centre Oscar Lambret, Lille, France

influencing blood CL of vinorelbine. A pharmacokinetic interaction occurred between vinorelbine and lapatinib probably due to lapatinib inhibition of CYP450-3A4. The combined lapatinib administration decreases statistically significant the vinorelbine CL. The maximal tolerated dose for the combination of lapatinib with vinorelbine on a q3w schedule is as follows: lapatinib 1,000 mg/day continuously and vinorelbine 22.5 mg/m² D1 & D8.

Keywords Vinorelbine · Lapatinib · Drug-interactions · Population pharmacokinetics · Anti-cancer agents

Introduction

Vinorelbine is a semisynthetic vinca alkaloid which is marketed under the brand name of Navelbine® for its activity against non-small cell lung and advanced breast cancer. Vinorelbine blocks cell mitosis by interfering with microtubule assembly and by depolymerisation of microtubules [1]. Vinorelbine also promotes apoptosis in cancer cells [2].

Lapatinib (Tykerb®) is a potent orally active small molecule that reversibly inhibits ErbB1 and ErbB2 tyrosine kinases leading to inhibition of MAPK and PI3 K signaling pathways. Lapatinib is approved in many countries for the treatment of advanced or metastatic breast cancer with HER2-overexpressing tumors either in first combination with aromatase inhibitors or after trastuzumab in combination with capecitabine for patients who have progressed after treatment regimens containing anthracyclines, taxanes, and trastuzumab [3]. Lapatinib is clinically active as a single agent or in combination with various antineoplastic agents in patients with HER2-overexpressing breast cancer or other solid tumors [4]. Lapatinib-related hepatotoxicity has been reported [5].

A novel combination of oral lapatinib as a selective dual ErbB1/ErbB2 targeted drug + intravenous (IV) vinorelbine as a cell-cycle inhibiting agent could provide a high-potential novel treatment for locally advanced or metastatic HER2 overexpressing breast cancer. Lapatinib is extensively metabolized by cytochrome P450 enzymes, in particular CYP3A4/5. Lapatinib has been shown to be a strong inhibitor of CYP3A4 by undergoing biotransformation to form reactive electrophilic species [6]. CYP3A4 is also principally involved in the metabolism of vinorelbine. Mechanism-based inactivation of CYP3A4 may lead to accumulation of coadministered drugs in clinical practice. Lapatinib is a potent mechanism-based inactivator [6], which could modify the pharmacokinetics of vinorelbine.

GEP01 is a phase I pharmacokinetic study of oral lapatinib and IV vinorelbine in the treatment of HER2-overexpressing locally advanced or metastatic breast cancer patients.

Our objectives were to develop a population pharmacokinetic model for vinorelbine and lapatinib and to examine the potential pharmacokinetic interactions given the shared metabolic pathway through CYP3A4 for both compounds.

Methods

Patients

Women were eligible if they were ≥18 years of age with HER2 overexpressing locally advanced or metastatic breast cancer progressing after ≤2 lines of trastuzumab-based treatment. Patients were required to be off treatment at least 4 weeks since their last radiotherapy course and at least 3 weeks since their last cycle of chemotherapy or treatment with trastuzumab.

The study was approved by a central national ethic committee, the protocol was reviewed by the local committees of all participating institutions, and written informed consent had to be obtained from patients before inclusion. Appropriate information had to be given to patients before study initiation.

Drug administration

Patients were treated with lapatinib starting 7 days (D7 to D0) before adding vinorelbine on a day 1 (D1) and day 8 (D8) every 3 weeks (q3w) IV infusion over 15 min schedule, until disease progression, unacceptable toxicity, or intercurrent conditions precluding the continuation of treatment. Lapatinib was given orally and continuously. Dose levels (DL) of lapatinib (mg)/vinorelbine (mg/m²) ranged from 750/20 to 1,250/25.

Vinorelbine assay

Whole blood samples were collected on day 1 of cycle 1, before and at approximately 12 min, 1, 3, and 24 h following the start of infusion, according to a validated limited sampling strategy for estimation of vinorelbine clearance (CL) [7]. Vinorelbine blood concentrations were measured by a validated ultra performance liquid chromatography method coupled with tandem mass spectrometry detection (UPLC-MS/MS) [8]. The lower limit of quantification of this method was 10.0 ng/mL. The within-assay precision and accuracy were 11.7 and 89%, respectively. The between-assay precision and accuracy were 11.1 and 92%, respectively.

Lapatinib assay

Blood samples for pharmacokinetics of lapatinib were collected on day 1 of cycle 1 and at approximately 12 min,

1, 3, 6, 12, and 24 h after lapatinib administration. Blood samples were immediately centrifuged to yield plasma. Lapatinib plasma concentrations were measured by a validated UPLC-MS/MS method [9]. The lower limit of quantification of this method was 10.0 ng/mL. The within-assay precision and accuracy were 12.8 and 109%, respectively. The between-assay precision and accuracy were 19.1 and 118%, respectively.

Pharmacokinetic modeling

Data were analyzed using the nonlinear mixed effect modeling software program Monolix version 31 s [10] (<http://wfn.software.monolix.org>). Parameters were estimated by computing the maximum likelihood estimator of the parameters without any approximation of the model (no linearization) using the stochastic approximation expectation maximization (SAEM) algorithm combined to a Markov Chain Monte Carlo (MCMC) procedure. The number of MCMC chains was fixed to 10 and 20 for all estimations of vinorelbine and lapatinib, respectively. A proportional model was used to describe the residual variability, and the between-subject variabilities (BSV) and η were ascribed to an exponential model. Parameter shrinkage was calculated as $\{1 - \text{sd}(\eta)/\Omega\}$, where $\text{sd}(\eta)$ and Ω are the standard deviation of individual, η_i , parameters and the population model estimate of the BSV, respectively. Specific tests comparing the log-likelihood, the Akaike information criterion (AIC) and the bayesian information criterion (BIC) were performed to test different hypotheses regarding the final model, covariate(s) effect on pharmacokinetic parameter(s), residual variability model (proportional versus proportional plus additive error model), structure of the variance-covariance matrix for the BSV parameters. Diagnostic graphics and other statistics were obtained using the R program [11]. They included predictions (PRED) and individual predictions (IPRED) versus observations (OBS) data, and the normalized prediction distribution errors (NPDE) metrics was used for residuals [12]. The predictive performance of the model was measured using the visual predictive check, drawn using 400 simulations of the final population model.

Results

Population characteristics

From the 29 patients investigated, 115 blood vinorelbine and 169 lapatinib plasma concentrations were available for analyses. No concentration was reported below the limit of quantification (BLQ). The patient's characteristics on entry into the studies are summarized in Table 1.

Table 1 Characteristics of the 29 patients

Parameter	Mean	Median	Range
Age (year)	59	57	37–76
Height (cm)	160	161	142–176
Bodyweight (kg)	65	62	45–110
Lean body mass (kg)	44	44	34–60
Ideal bodyweight (kg)	53	53	36–66.5
Body mass index (kg/m ²)	25.1	24	18.7–39
Body surface area (m ²)	1.67	1.62	1.40–2.22
Serum creatinine (μM)	62	62	47–80
Platelets count ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	294	271	151–539

Vinorelbine population pharmacokinetic modeling

A three-compartment open model adequately described blood vinorelbine time-concentration courses, for which CL, Q2, and Q3 denote the clearance of elimination and inter-compartmental clearances, and V1, V2, and V3 denote the central and peripheral volumes of distribution, respectively. BSV could be estimated for CL, V1, and V3 only. Also, a covariance term between CL- and V1 BSVs was significant. Residual variability was described by a proportional error model. At this step, V1 and CL estimates (% relative standard error or %rse) were 19.7 L h⁻¹ and 5.15 L (22 and 30%) and the corresponding BSVs were 0.673 and 0.964 (9 and 10%).

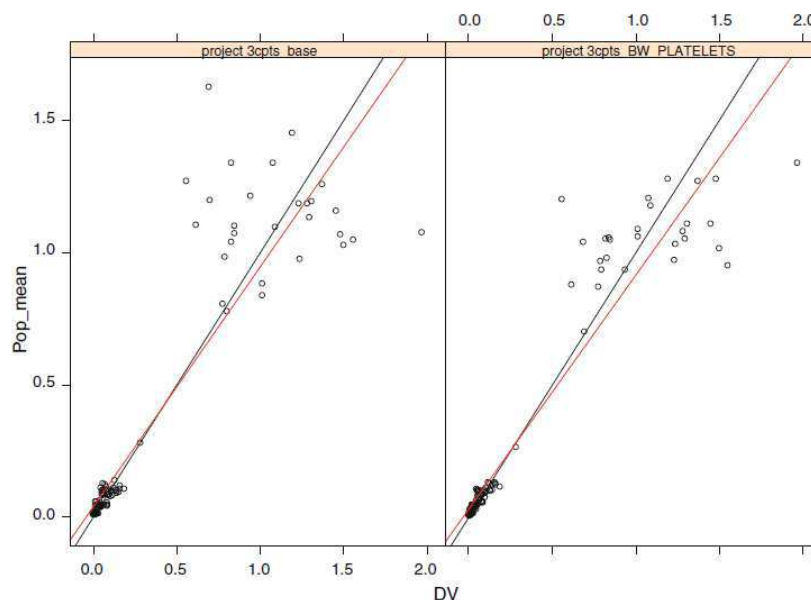
The main covariate effects were related to body size descriptors and platelet counts. Since there was a wide range in the patients body mass index, different body size descriptors were investigated, i.e., Body Weight (BW), Ideal Body Weight (IBW), and Lean Body Mass (LBM). As shown in Table 2, BW was the best size descriptor. Thus, CL and volume terms were normalized after a 70-kg patient body weight according to allometric scaling rule. This reduced the global BSV and the goodness-of-fit criteria (Table 2). The inclusion of platelet counts in the CL covariate model again reduced the global BSV. Lapatinib was also considered as either a categorical or a continuous covariate influencing clearance. No significant difference was observed between 750 mg of lapatinib (reference dose group) and 1,000 and 1,250 mg of lapatinib as other groups. Also when the effect of lapatinib was modeled as $\text{CL} = \text{TVCL} \times (\text{platelet effect}) \times (\text{BW effect}) \times (1 - \text{LAPDOSE}/(\text{LAPDOSE} + \text{lapdose50}))$, a significant lapdose 50 of 1,890 mg (15%) was estimated, but the BIC/AIC criteria values and BSV increased. So the lapatinib effect was not retained in the final model. Table 2 summarizes the model building steps. The improvement of fit from the covariate-free model to the final model is illustrated in Fig. 1. The final covariate model for clearance was then

Table 2 Pharmacokinetic model building for blood vinorelbine

Model	Details	AIC/BIC
A. Classical three-compartment covariate-free	CL, V1, Q2, V2, Q3, V3 $\eta_{Q2}, \eta_{V2}, \eta_{Q3}$ fixed to 0 Correlation between η_{CL} and η_{V1} $\eta^2(CL + V1 + V2) = 2.24$	-458/-443
B. Effect of ideal body weight	CL terms = $TVP \times (IBW/70)^{0.75}$ V terms = $TVP \times (IBW/70)^1$ $\eta^2(CL + V1 + V2) = 1.71$	-459/-444
C. Effect of lean body mass	CL terms = $TVP \times (LBM/60)^{0.75}$ V terms = $TVP \times (LBM/60)^1$ $\eta^2(CL + V1 + V2) = 1.49$	-468/-453
D. Effect of body weight, BW	CL terms = $TVCL \times (BW/70)^{0.75}$ V terms = $(BW/70)^1$ $\eta^2(CL + V1 + V2) = 1.38$	-475/-460
E. Effect of BW + Effect of platelets on CL	CL = $TVCL \times (PLAT/250)^\beta \times (BW/70)^{0.75}$ $\eta^2(CL + V1 + V2) = 1.06$	-478/-461
F. Effect of BW + Effect of platelets on CL + a. Effect of platelets on V1 b. or V2	CL = $TVCL \times (PLAT/250)^{\beta_{CL}} \times (BW/70)^{0.75}$ V1 = $TVV1 \times (PLAT/250)^{\beta_{V1}} \times (BW/70)^1$ or V2 = $TVV2 \times (PLAT/250)^{\beta_{V2}} \times (BW/70)^1$	-478/-460 -476/-459
G. Effect of BW + Effect of lapatinib, categorical effect	Reference TVCL for 750 mg lapatinib and 70 kg BW CL = $TVCL \times \beta_{LAP} 1,000 \text{ mg}$ CL = $TVCL \times \beta_{LAP} 1,250 \text{ mg}$	-477/-459

η , between-patients variability, *AIC* akaike information criterion/*BIC* bayesian information criterion, *BW* bodyweight in kg, *LBM* lean body mass in kg, *IBW* ideal body weight in kg, $\eta^2(CL + V1 + V2)$ denotes the sum of between-patients variances (η^2 s) for the clearance and volume parameters. For all models, the residual variability was proportional

Fig. 1 Observed vinorelbine concentrations, DV, versus model predictions, Pop_mean on a log scale for the covariate-free versus the final model. *Left panel* covariate-free model; *Right panel* final model including the effect of body weight on clearance and volume terms based on allometric rule plus the effect of platelets on elimination clearance (correlation 0.915 and 0.954, bias -0.01 and 0.005, precision 0.194 and 0.142 for left and right panels, respectively)



$$CL = 24.9 \times (PLAT/250,000)^{-1.1} \times (BW/70)^{0.75}$$

where 24.9 denotes the population typical value (TV) of CL and corresponds to the CL of a patient weighing 70 kg with a platelet count of 250,000/mm³. Table 3 summarizes the results and Fig. 2 depicts the diagnostic plots for the final population model.

The results of the visual predictive check (VPC) for the final blood vinorelbine population model at the 22.5 mg/m² dose level are depicted in Fig. 3. The observed concentrations were centered about the model-predicted median, and the proportion of observations out of the model-predicted 5th and 95th percentile curves were not significantly different from 10%.

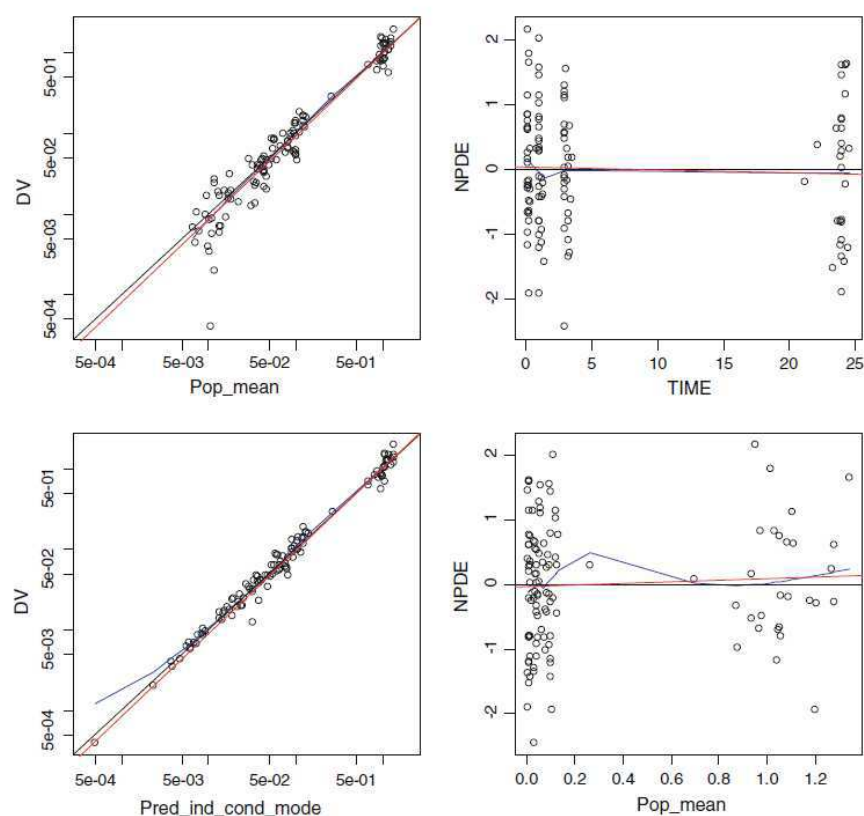
Table 3 Pharmacokinetic parameters of vinorelbine combined with lapatinib 750–1250 mg in 29 patients

Parameter	Covariate effect	Estimate (%rse)	BSV (%rse) [shrinkage]
CL, L h ⁻¹ 70 kg ⁻¹	(BW/70) ^{3/4}	24.9 (22)	0.506 (18) [0.17]
Per 250,000 platelets/mm ³	(PLATELETS/250,000) ^β	−1.1 (42)	
V1, L 70 kg ⁻¹	(BW/70) ¹	8.48 (24)	0.458 (31) [0.18]
Q2, L h ⁻¹ 70 kg ⁻¹	(BW/70) ^{3/4}	50.7 (8)	NA
V2, L 70 kg ⁻¹	(BW/70) ¹	1320 (32)	0.874(18) [0.16]
Q3, L h ⁻¹ 70 kg ⁻¹	(BW/70) ^{3/4}	66.1 (10)	NA
V3, L 70 kg ⁻¹	(BW/70) ¹	62.4 (10)	NA
Residual var., proportional	NA	0.236 (9)	NA

Parameters are normalized after a 70-kg patients body weight (BW) according to allometric scaling

%rse, percent relative standard error, BSV between-patients variability (η), CL and Q, elimination and inter-compartmental clearances, V₁ central and peripheral volumes of distribution, NA not applicable

Fig. 2 Diagnostic plots for the final vinorelbine population model. Observed vinorelbine concentrations, DV, versus model predictions (Pop_mean) and individual predictions, (Pred_ind_cond_mode) on a log scale and normalized prediction distribution errors (NPDE, mean = 0, variance = 1) versus time and model predictions. The mean and variance of the NPDE distribution were not significantly different from 0 and 1 (Wicoxon signed rank and Fisher variance tests, $P = 0.99$ and $P = 0.51$) and the distribution was normal (Shapiro–Wilk normality test, $P = 0.77$)



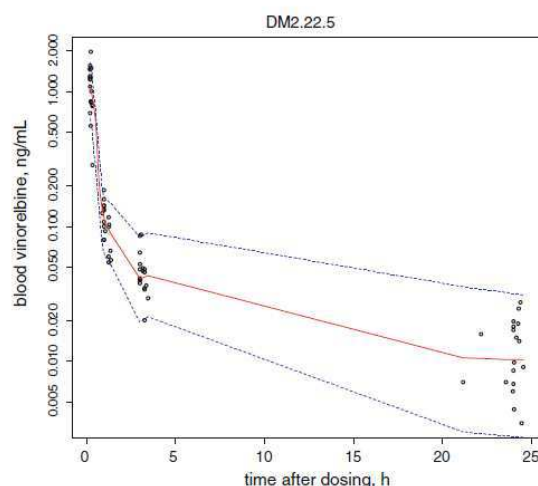


Fig. 3 Visual predictive check for the final blood vinorelbine population model at the 22.5 mg/m² dose level. (*open circle*) Observed data. The *solid lines* denote the 5th, median, and 95th percentiles from *bottom* to *top* of 400 Monte Carlo-simulated predictions. The *dashed lines* stand for the 5th, median, and 95th percentiles of the observed concentrations. The *bottom* and *top* lines include the 90% confidence interval

Table 4 Parameter estimates of the final lapatinib population model in 29 patients

Parameter	Estimate (%rse)	BSV (%rse) [shrinkage]
CL/F, L h ⁻¹	27.7 (18)	0.63 (9) [0.06]
V/F, L	357 (13)	0.37 (19) [0.10]
Ka, h ⁻¹	0.44 (18)	NA
Residual var., prop.	0.412 (7)	NA

%rse, percent relative standard error, BSV between-patients variability (η), CL/F and V/F apparent clearance and volume of distribution, F being the unknown bioavailability, NA not applicable

Lapatinib population pharmacokinetic modeling

A one-compartment open model adequately described lapatinib time-concentration courses, for which pharmacokinetic parameters included apparent clearance (CL/F), apparent volume of distribution (V/F), and absorption rate constant (Ka), F being the unknown bioavailability. BSV could not be estimated for Ka. The residual variability, proportional error model, was 0.412 (rse 7%). No covariate effect was significant, including a BW effect based on allometric rule. Table 4 summarizes the parameter estimates of the final lapatinib population model, and Fig. 4 depicts the diagnostic plots.

The results of the VPC for the final plasma lapatinib population model at the 1,000 and 1,250 mg DL are

depicted in Fig. 5. The proportions of observations out of the model-predicted 5th and 95th percentile curves were not significantly different from 10%.

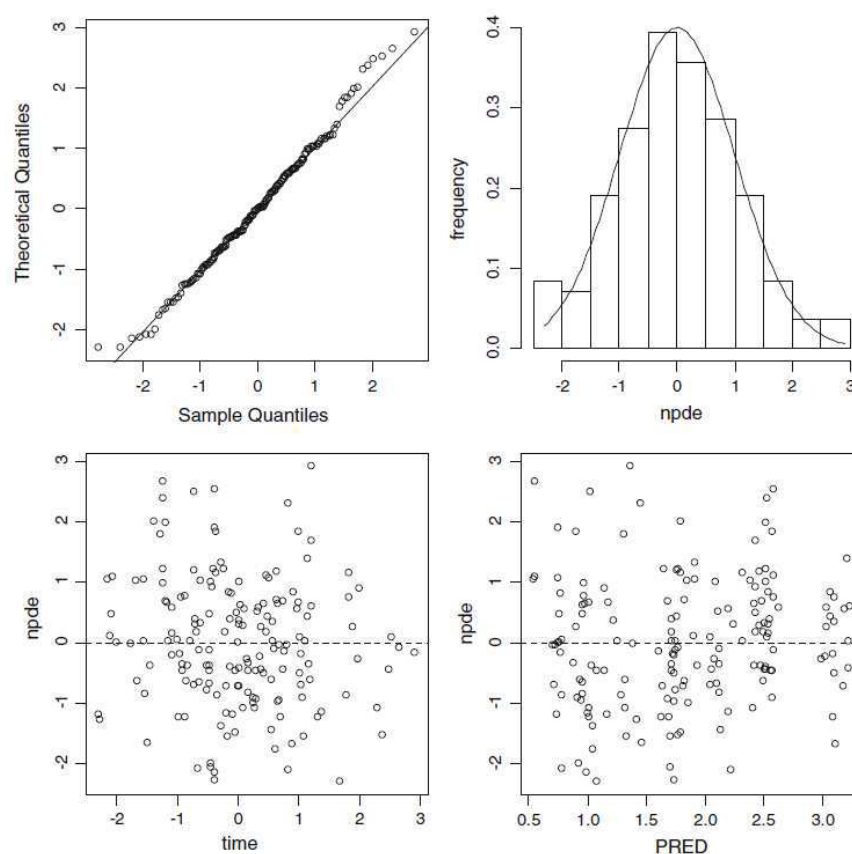
Tolerance and determination of maximum tolerated dose

No dose-limiting toxicity (DLT) occurred at DL1, DL2, and DL3. Two DLT were observed at DL4 (vinorelbine 25 mg/m² + lapatinib 1,000 mg) out of 3 patients. One patient presented with febrile neutropenia; the other one had a grade 4 neutropenia for more than 7 days. Both DLT observed at DL4 were hematological and suggested that they were related mostly to vinorelbine, warranting the exploration of an immediate higher dose for lapatinib with the vinorelbine dose used in DL3. This led to an extra DL3 (vinorelbine 22.5 mg/m² + lapatinib 1,250 mg) to the original design. Of 9 patients eventually enrolled at DL3, 2 developed a DLT: one grade 4 neutropenia > 7 days and 1 grade 4 neutropenia and diarrhea with confusion, multivisceral failure, and pancreatitis. Thus, DL3 (1,000/22.5) was further validated as the maximum tolerated dose with a total of 11 patients. Clinical details have been submitted for publication (REF DU PAPIER CLINIQUE SOUMIS).

Discussion

As previously observed, the pharmacokinetics of blood vinorelbine was satisfactorily described by an open three-compartment model with linear elimination. The vinorelbine pharmacokinetic parameters were significantly influenced by BW using an allometric scaling. Over the range body size predictors observed in these patients, IBW and LBM were also tested in the model but were not superior to BW in explaining the pharmacokinetic variability. Moreover, CL was specifically influenced by the platelet count: the greater the platelet count was, the lower the CL. These covariate effects are reasonable because of the high affinity binding of vinorelbine to platelets [13] and because BW is usually identified as influencing both volume and CL terms. This final model was validated by the very conservative NPDE test and its good predictive performance was assessed by the visual predictive check plot. The blood CL estimate, 24.9 L/h (19.7 L/h for the covariate-free model), was clearly lower than previously reported values: 39.4 L/h for the covariate-free model in a large pharmacokinetic population analysis including 64 patients, 20–45 mg/m² vinorelbine infusions, 99 pharmacokinetic courses, and 1228 observations [7], 45–46 L/h in 52 elderly patients receiving 60 mg/m², using a limited sampling (1.5, 3, and 24 h) and a Bayesian estimation

Fig. 4 Diagnostic plots for the final lapatinib population model. Observed lapatinib concentrations, DV, versus model predictions (Pop_mean) and individual predictions, (Pred_ind_cond_mode) on a log scale and normalized prediction distribution errors (NPDE, mean = 0, variance = 1) versus time and model predictions. The mean and variance of the NPDE distribution were not significantly different from 0 and 1 (Wicoxon signed rank and Fisher variance tests, $P = 0.79$ and $P = 0.22$) and the distribution was normal (Shapiro-Wilk normality test, $P = 0.36$)



[14], 41.5 L/h in 18 patients receiving 20–40 mg/m² with a rich sampling protocol, 12 concentration–time points after the start of infusion [15], and 33.1 L/h in 41 patients receiving 60 mg/m², using a limited sampling (0.33, 3, and 24 h) and a Bayesian estimation [16]. The lower CL value observed in this study could be due to the combined lapatinib administration since lapatinib and vinorelbine are metabolized by the CYP3A4 pathway and since lapatinib is known to inhibit this pathway. A statistically significant effect of lapatinib could not be shown in this study, likely because there was no patient group without lapatinib, and since the lapatinib doses (750–1,250 mg/24 h) were in a too narrow range to detect a significant effect between these dosage subgroups. A student's *t* test comparing our vinorelbine CL estimate to previously published ones [7, 16] showed a significant decrease in CL ($P < 0.001$) when vinorelbine was administered in combination with lapatinib (our study) compared with vinorelbine administered alone [7, 16].

The pharmacokinetics of plasma lapatinib was satisfactorily described by an open one-compartment model

with linear elimination as reported in a previous study using a population analysis [17]. Our plasma CL/F estimate (16.5 L/h/m²) was close to the previous reported value (12.1 L/h/m²) in a phase I/II study including 16 patients with 80 samples. The observed inter-individual variability estimates 0.63 and 0.37 for CL, and volume are consistent with those reported in the same previous phase I/II study. Different covariates including BW, height, body surface area, IBW, LBM, and vinorelbine dosages were analyzed for their significance in the model. The lapatinib pharmacokinetic parameters were not significantly influenced by these covariates.

Conclusions

A one-compartment model described the pharmacokinetics of lapatinib without any covariate effect. The pharmacokinetics of vinorelbine was best described by an open three-compartment model with linear elimination. BW and platelet count were confirmed as influencing

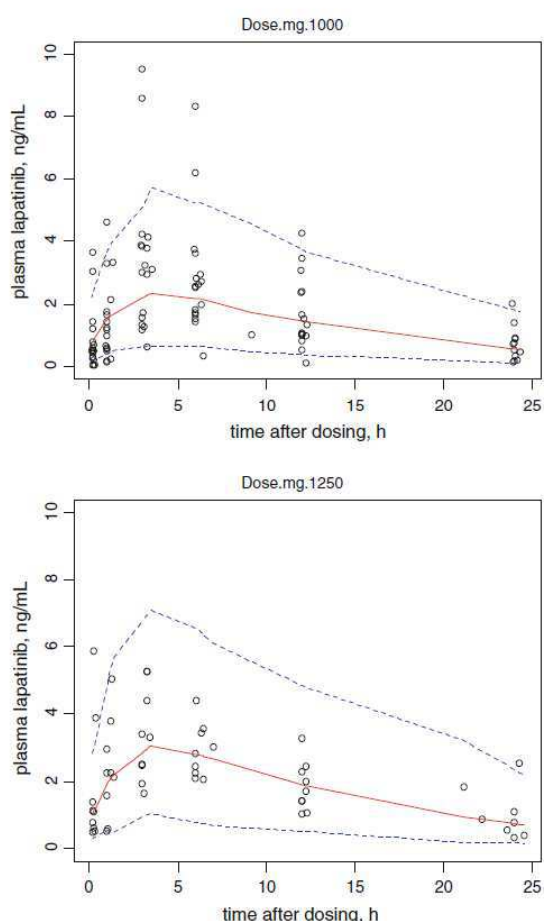


Fig. 5 Visual predictive check for the final plasma lapatinib population model at the 1,000 and 1,250 mg dose levels. *Circle* observed data. The *solid lines* denote the 5th, median, and 95th percentiles from bottom to top of 400 Monte Carlo-simulated predictions. The *dashed lines* stand for the 5th, median, and 95th percentiles of the observed concentrations. The *bottom and top lines* include the 90% confidence interval

blood CL of vinorelbine. The combined lapatinib administration (750–1,250 mg/day) decreased statistically significant the vinorelbine CL as compared with previous reports, strongly suggesting a pharmacokinetic interaction between vinorelbine and lapatinib due to CYP450-3A4 interaction.

Acknowledgments We acknowledge Federation des Centres de Lutte Contre le Cancer (Groupe d'Etudes Précoces) for their support and contribution into management of this study. We would also like to acknowledge GSK laboratories for their support. We wish to thank Bernard Asselain, Biostatistics Department of Institut Curie for his help.

References

1. Zhou XJ, Rahmani R (1992) Preclinical and clinical pharmacology of vinca alkaloids. *Drugs* 44(Suppl 4):1
2. Gregory RK, Smith IE (2000) Vinorelbine: a clinical review. *Br J Cancer* 82:1907
3. Crown JP, Burris HA III, Boyle F, Jones S, Koehler M, Newstat BO, Parikh R, Oliva C, Preston A, Byrne J (2008) Pooled analysis of diarrhea events in patients with cancer treated with lapatinib. *Breast Cancer Res Treat* 112:317
4. Gomez HL, Chavez MA, Doval DC, (2006). Results from a phase II randomized study of lapatinib as first-line treatment for patients with ErbB2-amplified advanced or metastatic breast cancer. *Breast cancer Res Treat* 100:S68. Abstract 1090
5. Gomez HL, Doval DC, Chavez MA, Ang PC, Aziz Z, Nag S, Ng C, Franco SX, Chow LW, Arbushites MC, Casey MA, Berger MS, Stein SH, Sledge GW (2008) Efficacy and safety of lapatinib as first-line treatment for patients with ErbB2-amplified advanced or metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 26:2999
6. Teng WC, Oh JW, New LS, Wahlin MD, Nelson SD, Ho HK, Chan ECY (2010) Mechanism-Based inactivation of cytochrome P450 3A4 by lapatinib. *Mol Pharmacol* 78:693
7. Nguyen L, Tranchand B, Puozzo C, Variol P (2001) Population pharmacokinetics model and limited sampling strategy for intravenous vinorelbine derived from phase I clinical trials. *Br J Clin Pharmacol* 53:459
8. Van Heugen JC, De Graeve J, Zorza G, Puozzo C (2001) New sensitive liquid chromatography method coupled with tandem mass spectrometric detection for the clinical analysis of vinorelbine and its metabolites in blood, plasma, urine and faeces. *J Chromatogr A* 926:11
9. Bai F, Freeman BB III, Fraga CH (2006) Determination of lapatinib (GW572016) in human plasma by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 831:169
10. Kuhn E et al (2005) Maximum likelihood estimation in nonlinear mixed effects models. *Comput Stat Data Anal* 49:1020–1030
11. Development Core R, Team R (2009) A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria
12. Brendel K et al (2010) Evaluation of different tests based on observations for external model evaluation of population analyses. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 37:49–65
13. Urien S, Brée F, Breillout F, Bastian G, Krikorian A, Tillement JP (1993) Vinorelbine high-affinity binding to human platelets and lymphocytes: distribution in human blood. *Cancer Chemother Pharmacol* 32:231
14. Puozzo C, Gridelli C (2004) Non-small-cell lung cancer in elderly patients: Influence of age on vinorelbine oral pharmacokinetics. *Clinical Lung Cancer* 237
15. Khayat D, Rixe O, Brunet R, Goupil A, Bugat R, Harousseau JL, Ifrah N, Puozzo C (2004). Pharmacokinetic linearity of i.v. vinorelbine from an intra-patient dose escalation study design. *Cancer Chemother Pharmacol* 54:193
16. Wong M, Balleine RL, Blair EYL, McLachlan AJ, Ackland SP, Grag MB, Evans S, Farlow D, Collins M, Rivory LP, Hoskins JM, Mann GJ, Clarke CL, Gurney H (2006) Predictors of vinorelbine pharmacokinetics and pharmacodynamics in patients with cancer. *J Clin Oncol* 24:2448
17. Thiessen B, Stewart C, Tsao M, Kamel-Reid S, Schiaquevich P, Mason W, Belanger K, Forsyth P, McIntosh L, Eisenhauer E (2010) A phase I/II trial of GW572016 (lapatinib) in recurrent glioblastoma multiforme: clinical outcomes, pharmacokinetics and molecular correlation. *Cancer Chemother Pharmacol* 65:353

III.5- Analyse Pharmacodynamique

III.4.2- La Toxicité

La modélisation pharmacodynamique de la myélosuppression est réalisée sur les patientes ayant eu une étude PK. Pour ces 29 patientes, nous avons obtenu 519 observations concernant le nombre de PNN avec une moyenne de 1903 PNN par mm^3 (Min ; 300 et Max ; 7300). Pour chaque patiente une mesure du nombre des PNN est réalisée au moment de son inclusion dans ce protocole, ensuite une numération des éléments figurés du sang est réalisée au premier jour, au huitième jour et éventuellement des mesures supplémentaires, à chaque cycle de traitement.

Le modèle structurel avec cinq compartiments (*cf.* analyse pharmacodynamique page 57), décrit de façon très satisfaisante l'évolution du nombre de PNN dans le temps. Nous avons analysé l'effet de plusieurs covariables comme celui des facteurs de croissance hématopoïétiques (GCSF), du poids, de la surface corporelle, et du lapatinib. Seule la prise en compte de GCSF montre un effet significatif sur les paramètres du modèle. Cependant une forte tendance, (mais non significative) est observée concernant l'influence de la surface corporelle sur la valeur initiale des PNN (CIRC0) ainsi que sur la valeur de la constante de transfert (K_{tr}). Nous avons également observée une très forte tendance quant à l'influence du lapatinib sur les paramètres PD. En effet, le lapatinib diminuerait le rétrocontrôle en baissant la valeur du facteur de rétrocontrôle (γ) et en accélérant la phase de transit qui se traduit par une augmentation du K_{tr} .

Le tableau 22 (page 101) présente les différentes étapes de construction du modèle PD.

Les paramètres estimés par les différents modèles testés sont présentés dans le tableau 23 (page 102). Ces modèles sont construits à partir du modèle de base (sans aucune covariable) de la manière suivante :

- 1- Base + GCSF pour tester l'influence des facteurs de croissance hématopoïétiques.
- 2- Base + Lap 750 : pour estimer les paramètres des patientes qui ont reçu 750 mg de lapatinib.
- 3- Base + Lap 1000 : pour estimer les paramètres des patientes qui ont reçu 1000 mg de lapatinib.
- 4- Base + Lap 1250 : pour estimer les paramètres des patientes qui ont reçu 1250 mg de lapatinib.
- 5- Base+GCSF+ lapatinib (1000 **ou** 1250) : pour tester l'influence des paliers de dose de lapatinib 1000 mg et 1250 mg séparément sur les paramètres K_{tr} et γ , par rapport au palier de départ à 750 mg que nous avons considéré comme étant le groupe de référence dans cette population.
- 6- Base+GCSF+ lapatinib (1000 **et** 1250) : pour tester l'influence des paliers de dose de lapatinib 1000 mg ou 1250 mg ensemble sur les paramètres K_{tr} et γ , par rapport au palier de départ à 750 mg que nous avons considéré comme étant le groupe de référence dans cette population. (Tous les résultats de ces différents modèles sont présentés dans l'annexe 16).

Étant donné que nous n'avons pas réussi à estimer avec précision la valeur d' E_{max} , nous l'avons fixé à 1.

La figure 19, (page 103) illustre l'ajustement des données prédites aux observations pour les deux modèles testés (avec ou sans covariables). La figure 20 (page 104) montre l'excellent ajustement des données (nombre de PNN) observées et les

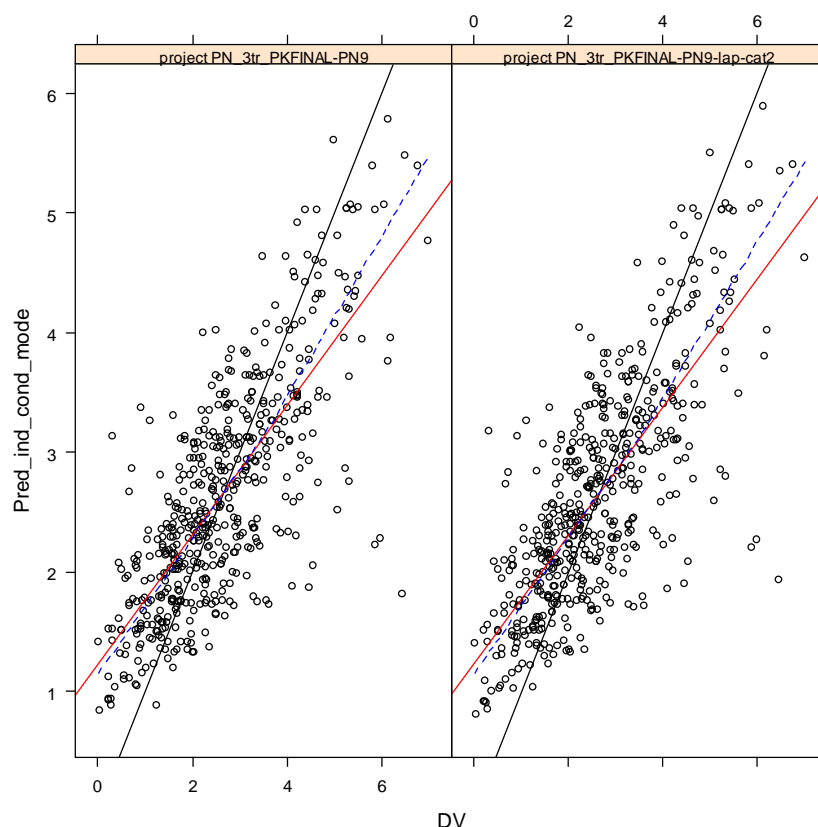
prédictions du modèle. Les graphiques individuels de l'évolution des PNN en fonction du temps (observations et prédictions individuelles bayésiennes et de population) sont présentés en annexes 14a et 14b.

Model	paramètres	AIC / BIC
A. Effet du lapatinib en continu sur K_{tr} et γ + effet du GCSF sur γ	$K_{tr} = TVK_{tr} * (LAP/1000)^\beta$ $\gamma = TV \gamma * (LAP/1000)^\beta$	1572 / 1590
B. Effet du GCSF sur K_{tr} et γ		1522 / 1537
C. Effet du lapatinib sur K_{tr} et γ + effet du GCSF sur γ	référence TVK_{tr} at $TV\gamma$ pour 750 mg lapatinib $K_{tr} = TVK_{tr} * \beta_{LAP1000mg \text{ et } 1250mg}$ $\gamma = TV \gamma * \beta_{LAP1000mg \text{ et } 1250mg}$	1522 / 1540
D. Effet du lapatinib + effet du GCSF sur K_{tr} et γ	référence TVK_{tr} at $TV\gamma$ pour 750 mg lapatinib $K_{tr} = TVK_{tr} * \beta_{LAP1000mg \text{ ou } 1250mg}$ $\gamma = TV \gamma * \beta_{LAP1000mg \text{ ou } 1250mg}$	1536 / 1553

Tableau 22 Les différentes étapes de construction du modèle PD de la vinorelbine

	CIRC0 (*10 ⁹ /L)	Ktr (ERS%)	IC50 (ERS%)	gg (ERS%)	gg _GCSF	Beta_Ktr lap_1000	Beta_Ktr lap_1250	Beta_gg lap_1000	Beta_gg lap_1250	omega_ CIRC0 (ERS%)	omega_ Ktr (ERS%)	omega_IC50 (ERS%)	omega_ gg (ERS%)
Base	3,56 (5%)	0,707 (3%)	0,055 (17%)	0,24 (10%)	/	/	/	/	/	0,186 (24%)	0,065 (44%)	0,542 (31%)	0,35 (25%)
Base+GCSF	3,56 (5%)	0,73 (2%)	0,042 (16%)	0,22 (7%)	1,48 (6%)	/	/	/	/	0,25 (16%)	0,056 (30%)	0,69 (19%)	0,24 (26%)
Base+IAP 750	4,01 (8%)	0,584 (7%)	0,042 (31%)	0,392 (15%)	/	/	/	/	/	NA	0,0404 (165%)	0,21 (205%)	0,05 (428%)
Base+IAP 1000	3,61 (7%)	0,767 (5%)	0,056 (25%)	0,216 (14%)	/	/	/	/	/	0,186 (33%)	0,095 (53%)	0,61 (40%)	0,21 (79%)
Base+IAP 1250	3,71 (8%)	0,711 (4%)	0,041 (24%)	0,212 (13%)	/	/	/	/	/	0,198 (34%)	0,059 (80%)	0,57 (35%)	0,275 (39%)
Base+GCSF+ lapatinib (1000 ou 1250)	3,56 (5%)	0,69 (4%)	0,041 (15%)	0,29 (17%)	1,39	0,107 (0,768)	NA	-0,293 (0,215)	-0,289 (0,216)	0,195 (23%)	0,068 (33%)	0,52 (33%)	0,175 (44%)
Base+GCSF+ lapatinib (1000 et 1250)	3,55 (5%)	0,649 (5%)	0,043 (15%)	0,34 (17%)	1,48 (3%)	0,124 (0,735)		-0,467 (0,211)		0,24 (16%)	0,058 (42%)	0,65 (18%)	0,23 (26%)

Tableau 23 Paramètres PD de population estimés avec les différents modèles testés.
Les chiffres en rouge sont les valeurs des paramètres en considérant l'effet du lapatinib



Légende : DV, Observations ou nombre des PNN ; Pred_ind, prédictions individuelles du modèle.

**Figure 19 Comparaison graphique de l'ajustement des données des polynucléaires aux deux modèles PD testés (le modèle de base avec GCSF, versus le modèle avec covariables).
Panneau de gauche le modèle sans covariable; panneau de droite, le modèle avec l'effet du GCSF et du lapatinib.**

La figure 19 montre également que la prise en compte des deux covariables, GCSF et lapatinib, n'améliore pas de manière significative les prédictions du modèle de base avec du GCSF.

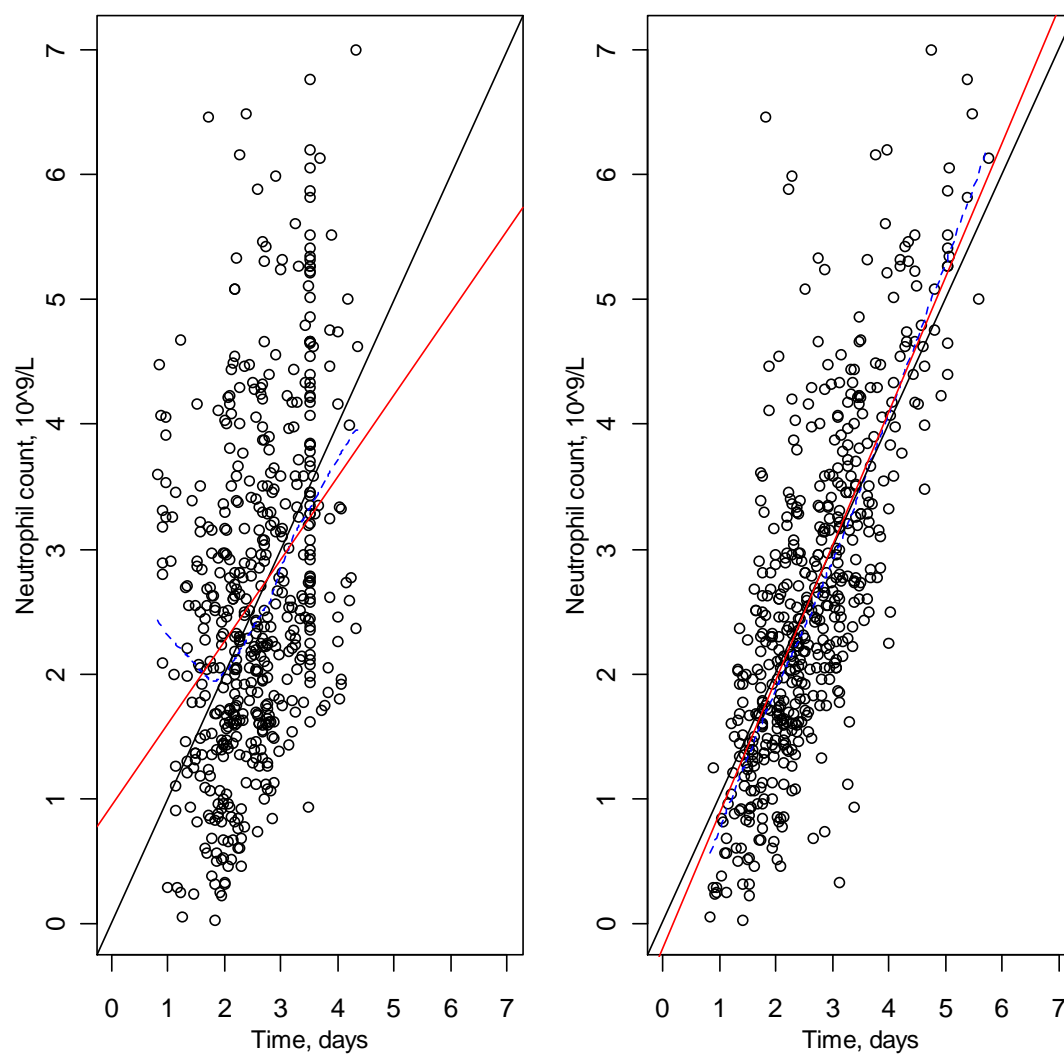


Figure 20. Représentation de l'ajustement des données pour le modèle final Le nombre de PNN observé, versus les prédictions du modèle Pop_mean panneau de gauche et les prédictions individuelles panneau de droite

III.4.3- L'efficacité

La modélisation pharmacodynamique de la croissance tumorale est également réalisée chez 26 patientes ayant eu des mesures de la taille tumorale par scanner. 119 mesures sont utilisées pour cette modélisation.

Parmi les deux modèles testés, le modèle longitudinal de l'inhibition de la croissance tumorale avec le pourcentage de changement de taille de la tumeur par rapport au temps de base, est celui qui décrit le mieux l'évolution de la croissance tumorale en fonction du temps et de l'exposition au traitement. Ce modèle donne la meilleure précision des paramètres estimés. La prise en compte de la PK individualisée a nettement amélioré la précision du modèle en revanche, l'effet du lapatinib sur les paramètres structuraux a détérioré la précision des estimations. Nous avons, cependant observé une très forte tendance entre l'augmentation de la dose du lapatinib et la diminution du taux de croissance tumorale caractérisée par sa constante K_g . Le tableau 24 (page 106) présente les paramètres PD estimés du modèle final. Une comparaison de l'ajustement de la croissance tumorale entre les 3 paliers de doses de lapatinib pour le modèle final est illustrée par les figures 21 et 22 (page 107 et 108). Toutes les courbes individuelles de l'évolution de la croissance tumorale en fonction du temps sont présentées en annexe 15a et 15b.

Après vérification visuelle des courbes de l'évolution de la croissance tumorale, nous avons décidé de vérifier l'influence du lapatinib pour le groupe 1000 mg/jour vs les deux groupes 750 mg et 1250 mg ensemble. Pour ce modèle l'effet du lapatinib sur le taux de croissance tumorale devient significatif pour le groupe 1000 mg/jour (annexe 17).

Paramètres estimés du modèle de la croissance tumorale		
Paramètre	Valeur estimée (%ers)	VII* (%ers)
Taux de croissance tumorale K_g (semaine ⁻¹)	0,008 (46)	1,48 (25)
Taux de mort cellulaire K_d (semaine ⁻¹ /unité d'AUC*)	3,8 (27)	1,12 (21)
Constante de la Résistance apparente λ (semaine ⁻¹)	0,29 (26)	0,91 (26)
Variabilité résiduelle. additive	0,102 (9)	NA

Légendes : * unité d'AUC: $\mu\text{g/L.h}$

VII, Variabilité inter patiente (η)

Tableau 24

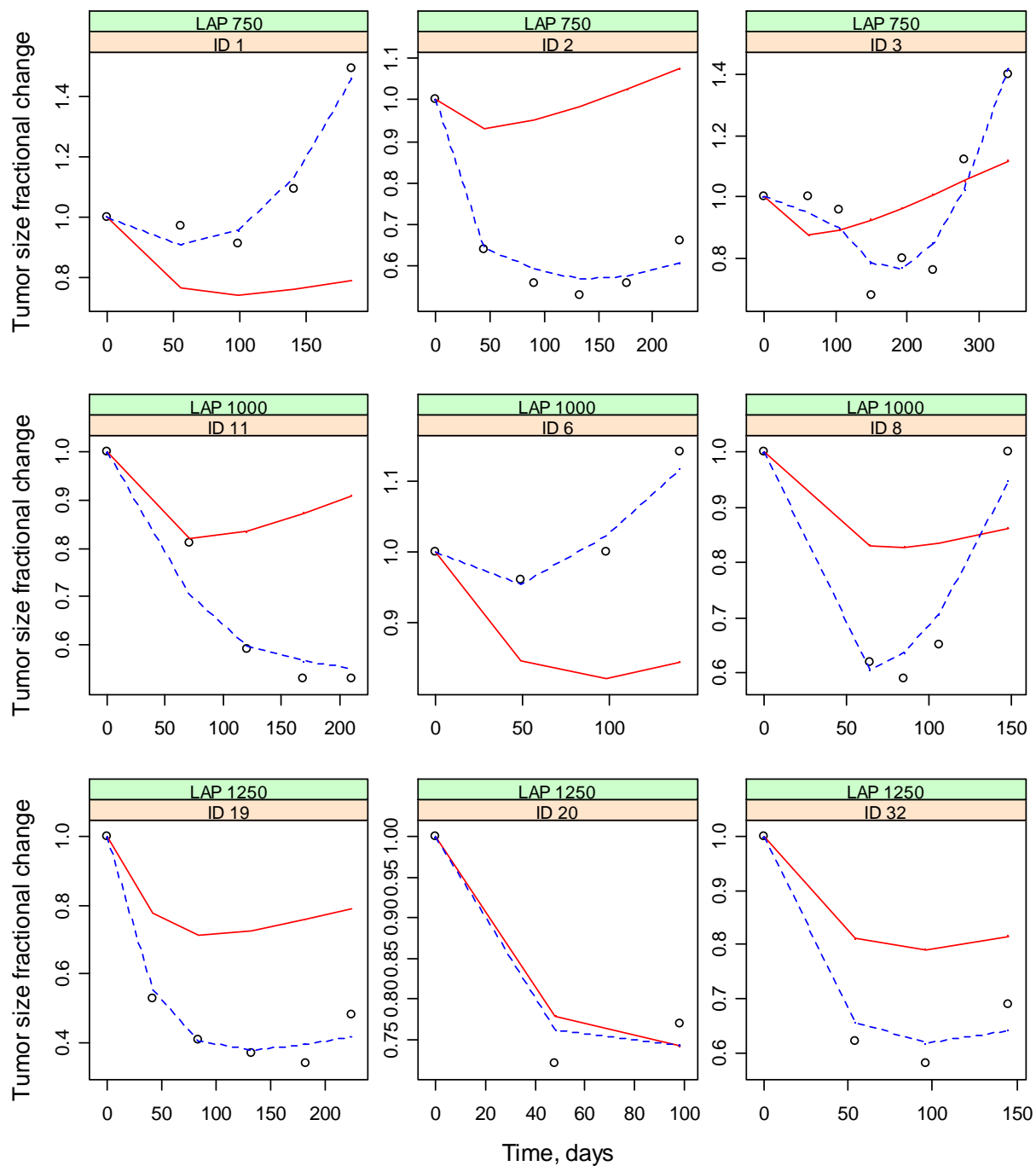


Figure 21. L'évolution en pourcentage de la taille tumorale en fonction du temps (jours)
 (o) observations, (- - -) prédictions individuelles bayésiennes (-) prédictions de population

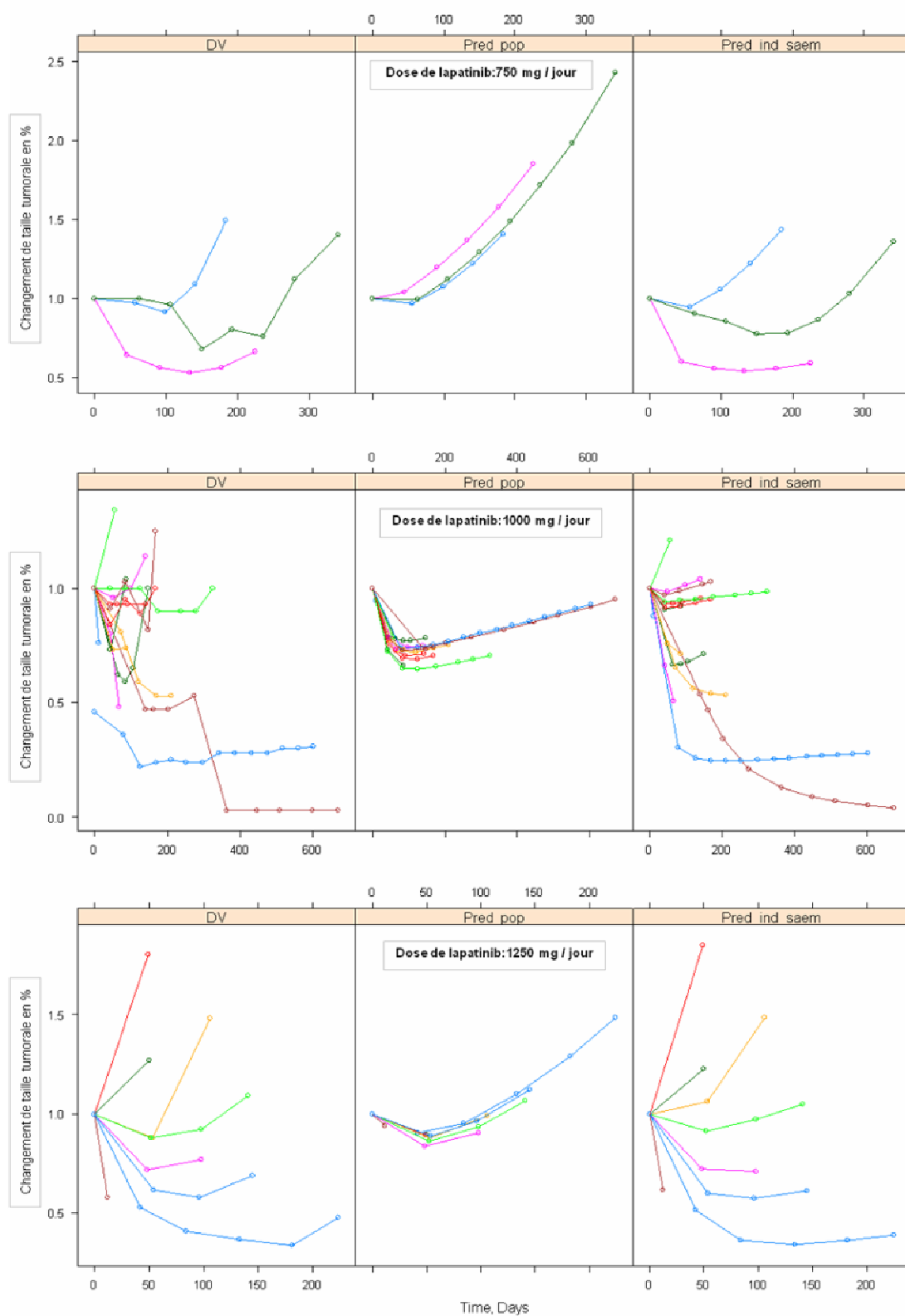


Figure 22. L'évolution en pourcentage de la taille tumorale en fonction du temps (jours) (DV) observations, (Pred ind saem) prédictions individuelles bayésiennes (Pred pop) prédictions de population pour les trois paliers de dose de lapatinib

Cette seconde partie du travail a fait l'objet d'une soumission pour une publication internationale intégrée dans ce document:

Page 1/23

Original Report

Title

Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model for Neutropenia and the Tumor Shrinkage Time Course by vinorelbine-lapatinib combination in breast cancer patients

Authors' affiliations

¹Keyvan Rezai, ¹François Lokiec, ²Nicolas Isambert, ³Etienne Brain, ⁴Florence Dalenc, ⁵Véronique Diéras, ⁶Jacques Bonnetterre, ⁷Marta Jimenez, ²Pierre Fumoleau, ¹Saïk Urien.

¹ Pharmacology Department, Institut Curie - Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France

² Medical Oncology Department, Centre Georges-François Leclerc, Dijon, France

³ Medical Oncology Department, Institut Curie - Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France

⁴ Medical Oncology Department, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France

⁵ Medical Oncology Department, Institut Curie, Paris, France

⁶ General Cancerology Department, Centre Oscar Lambret, Lille, France

⁷ R&D Unicancer, Unicancer, France

Running title

PK-PD Modeling of lapatinib and vinorelbine in breast cancer

Key words

Drug-interactions, lapatinib, pharmacodynamics and pharmacokinetics, phase I breast cancer, vinorelbine.

Notes

Financial support

Funded by GlaxoSmithKline France and l'Institut de Recherche Pierre Fabre France.

Corresponding author

Keyvan REZAI , PhD

Pharmacology Department, Institut Curie - Hôpital René Huguenin 35 rue Dailly – 92210

Saint-Cloud, France

Phone : +33.(0)1.47.11.16.15

Fax : +33.(0)1.47.11.16.17

E-mail: keyvan.rezai@curie.net

Conflicts of Interest Disclosure

Etienne Brain has had a compensated advisory role with GlaxoSmithKline.

Véronique Diéras has had a compensated advisory role with GlaxoSmithKline and Roche.

Pierre Fumoleau has had a compensated advisory role with GlaxoSmithKline, sanofi aventis, Roche and Jonhson & Jonhson.

Presented at the 45th ASCO Annual Meeting, 2009, Orlando: abstract 1051 (general poster session).

Presented at the 32nd SABCS Annual Meeting, December 9-13 2009, abstract 5091 (general poster session)

Abstract: 245 words

Text: 2276 words

Number of tables: 3

Number of figures: 3

STATEMENT OF TRANSLATIONAL RELEVANCE

Combining targeted therapy with chemotherapy may provide added benefit but also may cause drug interactions and increase pharmacokinetic and pharmacodynamic inter-individual variabilities. Drug interactions are now known to have a significant impact on drug disposition. This phase Ib study investigated the maximum tolerated dose, safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of lapatinib and vinorelbine combination in patients with HER2+ locally advanced or metastatic breast cancer. Population PK-PD (PPD) modeling that links biomarker response such as tumor size change or toxicity like neutropenia, to drug specific parameters is critical to support early clinical decisions. In this study, PPD modeling successfully described myelosuppression and tumor shrinkage. The MTD was reached at DL3 (1000 mg of lapatinib / 22.5 mg/m² of vinorelbine). These data strongly suggest a PK-PD interaction between lapatinib and vinorelbine probably due to CYP450-3A4 interaction. Oncologists must consider drug interaction when using a combination of targeted therapy and chemotherapy.

ABSTRACT

Purpose: The objectives of this study were to investigate the population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic (PK-PD) modeling of iv vinorelbine combined with lapatinib as well as the effect of covariates on the neutrophil and tumor shrinkage time courses in patients treated for breast cancer.

Experimental Design: Women with HER2-overexpressing locally advanced or metastatic breast cancer progressing after ≤ 2 lines of trastuzumab-based treatment, were treated with daily lapatinib starting 7 days (D) (D-7 to D0) before vinorelbine on a D1 & D8 q3w iv schedule. Dose levels [DL, lapatinib (mg)/vinorelbine (mg/m²)] ranged from 750/20 to 1,250/25. Neutrophil counts were collected within 7 days before beginning of treatment and up to 3 times per cycle post-treatment.

For tumor response, computed tomography was performed every 6 weeks. A physiologically based PK-PD neutropenia model was used to describe myelosuppression and a longitudinal exposure-response tumor growth inhibition was developed to describe tumor shrinkage. Data analysis was performed using a nonlinear mixed effect model program (Monolix version 3.2s).

Results: A total of 29 patients were treated by the combination of lapatinib + vinorelbine. Only G-CSF influenced the myelosuppression time course, inducing an increase in the proliferation compartment via a feedback loop. A strong trend was observed between lapatinib dose level increase and myelosuppression increase and tumor growth rate decrease.

Conclusions: The models successfully described myelosuppression and tumor shrinkage. Lapatinib (consistent with PK interaction of vinorelbine and/or a direct pharmacodynamic

effect of lapatinib), could alter the hematological tolerance and improve the tumor response.

Introduction

Vinorelbine is a semisynthetic vinca alkaloid which is marketed under the brand name of Navelbine® for its activity against non small cell lung and advanced breast cancer. Vinorelbine blocks cell mitosis by interfering with microtubule assembly and by depolymerisation of microtubules [1]. Vinorelbine also promotes apoptosis in cancer cells [2]. Neutropenia is the main dose-limiting toxicity occurring in vinorelbine treatment [3]. Lapatinib (Tykerb®) is a potent orally active small molecule that reversibly inhibits ErbB1 and ErbB2 tyrosine kinases leading to inhibition of MAPK and PI3K signaling pathways. Lapatinib is approved in many countries for the treatment of advanced or metastatic breast cancer with HER2-overexpressing tumors either in first line, in combination with aromatase inhibitors or after trastuzumab in combination with capecitabine for patients who have progressed after treatment regimens including adjuvant containing an anthracycline, a taxane or trastuzumab [4]. Lapatinib is clinically active as single agent or in combination with various antineoplastic agents in patients with HER2-overexpressing breast cancer or other solid tumors [5]. Lapatinib is extensively metabolized by cytochrome P450 enzymes, in particular CYP3A4/5 and, to a lesser extent, CYP2C8 (European Medicines Agency, 2008). On the other hand, lapatinib has been shown to be a strong inhibitor of CYP3A4 [6]. CYP3A4 is also mainly involved in vinorelbine metabolism[7].

A novel combination of oral lapatinib as a targeted drug + iv vinorelbine as a cell-cycle inhibiting agent could provide a high-potential novel treatment for locally-advanced or metastatic HER2 overexpressing breast cancer.

GEP01 is a phase I pharmacokinetic study of lapatinib and iv vinorelbine in the

treatment of HER2-overexpressing locally advanced or metastatic breast cancer. We have shown a PK interaction related to the combination of vinorelbine and lapatinib [8].

The contribution of PK or PD variability to the variable clinical outcome has clearly been demonstrated [9, 10]. Elucidating the sources of variability has become a new approach for optimal dosing and drugs combinations [11].

The aims of this study were to develop a PK-PD model, to describe myelosuppression and tumor shrinkage including the sources of variability and to detect a drug interaction related to this combination. Pharmacodynamic issues included myelosuppression and tumor shrinkage measured, respectively, by the absolute neutrophil count (ANC) and the measurement of tumor size over time.

Materials and Methods

Patient population. Women were eligible if they were ≥ 18 years of age with HER2 overexpressing locally advanced or metastatic breast cancer progressing after \leq two lines of trastuzumab-based treatment. Patients were required to be at least 4 weeks since their last radiotherapy and at least 3 weeks since their last chemotherapy or treatment with trastuzumab.

This study was approved by an appropriately constituted Institutional Review Board (IRB) / Institutional Ethics Committee (IEC) and written informed consent had to be obtained from the patients before inclusion. Appropriate information had to be given to patients before study initiation.

Drug administration. Patients were treated with lapatinib po starting seven days (D-7 to D0) before vinorelbine on a day one (D1) and day eight (D8) q3w iv schedule, until disease progression, unacceptable toxicity or intercurrent conditions that preclude

continuation of the treatment. Lapatinib was given orally once-a-day. Dose levels of lapatinib (mg) / vinorelbine (mg/m²) ranged from 750/20 to 1,250/25.

Blood sampling and bioanalysis were conducted as previously published [8].

Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analysis and Modeling.

Data were analysed using the nonlinear mixed effect modeling software program Monolix version 3.2s [12] (<http://wfn.software.monolix.org>). Parameters were estimated by computing the maximum likelihood estimator of the parameters without any approximation of the model (no linearization) using the stochastic approximation expectation maximization (SAEM) algorithm combined to a MCMC (Markov Chain Monte Carlo) procedure. The number of MCMC chains was fixed to 5 for all estimations of polynuclear neutrophil (PNN). An additive model was used to describe the residual variability, and the between subject variabilities (BSV, η) were ascribed to an exponential model. Parameter shrinkage was calculated as $\{1 - \text{sd}(\eta)/\Omega\}$, where $\text{sd}(\eta)$ and Ω are the standard deviation of individual, η_i , parameters and the population model estimate of the BSV respectively. Specific tests comparing the log-likelihood, the Akaike information criterion (AIC) and the bayesian information criterion (BIC) were performed to test different hypotheses regarding the final model, covariate(s) effect on pharmacodynamic parameter(s), residual variability model (proportional versus proportional plus additive error model), structure of the variance-covariance matrix for the BSV parameters. Diagnostic graphics and other statistics were obtained using the R program [13]. They included PRED and IPRED vs. OBS data and the NPDE metrics was used for residuals [14]. The predictive performance of the model was measured using the visual predictive check, drawn using 400 simulations of the final population model.

Myelosuppression modeling: The population analysis for neutrophil concentration-time course was based on PK-PD model published by Friberg et al [15]. PK-PD model based on the semi-mechanistic structural model consisted of one compartment that represented proliferative cells (PROL), three transit compartments with maturing cells (transit), and a compartment of circulating observed blood cells (Circ). This PD model allowed to mimic the maturation chain of progenitor cells in bone marrow to differentiated neutrophils (NEU) in the systemic circulation. Transit compartments with a rate constant (k_{tr}) stand for the time delay between administration and the observed effect. To improve interpretability, the mean transit time was estimated, which was defined as $MTT = (n + 1) / k_{tr}$ where n is the number of transit compartments. Drug effect was defined as an E_{max} model $[E_{max} \times Conc / (EC_{50} + Conc)]$ on the proliferation rate constant (k_{prol}) of progenitor cells. E_{max} was fixed to a value of one. A feedback loop determined as ratio between the baseline concentration (NEU_{t0}) and the concentration at any time (NEU_{ti}) raised to the power γ was used to describe the rebound of cells because circulating neutrophil counts and growth factor G-CSF levels are inversely related [16]. Different continuous covariates such as BSA, bodyweight, lapatinib and categorical covariates like lapatinib and G-CSF, were analyzed for influence on the estimated PD parameters of the basic model. Since myelosuppression is not a toxic effect of lapatinib, and neutropenia is induced by vinorelbine, the myelosuppression time-course was related to vinorelbine pharmacokinetics.

Tumor shrinkage modeling: a mechanism-based PK-PD model was applied [17] to describe tumor size as a function of time and drug exposure (tumor growth inhibition model, TGI) and accounts for the natural growth of the tumor and drug action on the

tumor. A resistance process was incorporated to explain the regrowth of tumor. Serial measurements of the largest dimension of target lesions were done by computed tomography every 6 weeks.

The model is described by the following equations:

$$dY(t)/dt = K_g \cdot Y(t) - K_d \cdot AUC \times R(t) \times Y(t)$$

$$R(t) = \exp(-\lambda t)$$

$$Y(0) = Y_0$$

where Y is the sum of longest diameters of target lesions, K_g and K_d are the tumor growth rate and drug constant-cell-kill rate, respectively; $R(t)$ is the resistance function that includes a time rate constant of resistance (λ), AUC is the area under the concentration-time curve for vinorelbine and Y_0 is the observed baseline tumor size. Lapatinib dose level was analyzed for influence on the estimated PD parameters of the basic model.

The PK in this study has been reported previously [8].

Results

Population characteristics. 29 patients received lapatinib + vinorelbine combination. The patient's characteristics on entry into the study are summarized in Table 1. Of 3 patients included at DL4 (1,000/25), 2 developed an hematological DLT (one febrile neutropenia and one grade 4 neutropenia lasting more than 7 days) meeting the criteria for MAD. According to the initial design, DL3 (1,000/22.5) had to be considered as the MTD and recommended for further development [18].

Myelosuppression analysis: From the 29 patients investigated, 519 neutrophil counts and were available for PK-PD analysis. Out of 29 patients, five have received

granulocyte colony-stimulating-factor (G-CSF).

Basic PK-PD models for myelosuppression were developed and the population parameters to be estimated were NEU_{t0} , MTT , EC_{50} , and γ . Between-subject variability was estimated for all parameters except E_{max} . The main covariate effect was only related to G-CSF. The inclusion of G-CSF in the γ covariate model reduced the global BSV from 0.35 to 0.26. The estimate value of γ from 24 patients off G-CSF treatment was 0.206 and the estimate γ value for 5 patients with G-CSF was increased to 0.33. Lapatinib was investigated as a continuous or categorical covariate that could influence k_{tr} and γ . No significant difference was observed between 750 mg of lapatinib (reference dose group) and 1000 / 1250 mg of lapatinib as the other. Nevertheless, a strong trend was observed between lapatinib dose level increase and proliferation rate decrease ($k_{tr} = 0.6 \text{ h}^{-1}$ vs $k_{tr} = 0.76 \text{ h}^{-1}$ and $\gamma = 0.37$ vs $\gamma = 0.21$ for 750 mg vs 1000/1250 mg of lapatinib respectively). The final population model parameter estimates for myelosuppression and tumor shrinkage are presented in tables 2 and 3. The quality of the final myelosuppression model is shown in the goodness-of-fit plots in figures 1 and 2.

Tumor shrinkage analysis: 119 tumor size measurements were available for PK-PD analysis. Mechanism-based PK-PD model was developed and the population parameters to be estimated were K_g , K_d and λ . Lapatinib was also considered as a continuous or categorical covariate influencing tumor growth rate (K_g) for tumor shrinkage model. Although, no significant difference was observed between 750 mg of lapatinib (reference dose group) and 1000 / 1250 mg of lapatinib as the other, a same trend was also observed between lapatinib dose levels and tumor growth rate parameter: when

lapatinib doses increase, K_g values decrease ($K_g = 0.017 \text{ week}^{-1}$ and $K_g = 0.004 \text{ week}^{-1}$ for 750 mg and 1000/1250 mg of lapatinib respectively). The goodness-of-fit plots for tumor shrinkage model for 3 dose levels of lapatinib are shown in figure 3.

Discussion

Mechanistic PK-PD models allow to incorporate covariates such as patients characteristics and drug combination, which can decrease BSV and improve patient predictions [18]. In this study, two physiology-based PK-PD models were developed in 29 patients with HER2-overexpressing locally advanced or metastatic breast cancer and treated by the combination of lapatinib and vinorelbine to describe myelosuppression and tumor shrinkage. In this model, with regard to vinorelbine cytotoxic effects on progenitor cells, neutrophil count time-courses were related to vinorelbine pharmacokinetics to explore the neutropenia degree and elucidate the sources of variability. The myelosuppression model adequately described the neutrophil counts after administration of vinorelbine. The estimate of MTT (128h) and γ (0.2) are similar to previous finding [15, 19]. For vinorelbine, G-CSF influences significantly the feedback loop and thus accelerates the proliferation of progenitor cells. On the one hand, the increase in the γ parameter in the presence of the G-CSF treatment reflects a true change in the homeostatic capacity of the bone marrow as previously published [15, 19]. On the other hand, the important decrease in the γ parameter in the absence of G-CSF treatment could be due to lapatinib co-administration. The influence of G-CSF on the MTT parameter was not significant which is in contrast with previously reported data [19, 20]. As previously published, [8] vinorelbine blood clearance estimate was abnormally lower

than previously reported values [21]. Moreover, a strong trend was observed between lapatinib dose level increase and proliferation rate decrease. Since lapatinib and vinorelbine are metabolized by the CYP3A4 pathway and since lapatinib is known to inhibit this pathway, a PK/PD interaction might increase the exposure to VNR and consequently alter the hematological tolerance. In our study, DL3 (1,000/22.5) was validated as the maximum tolerated dose (MTD) whereas Chew et al [22], suggested 20 mg/m² of vinorelbine weekly and 1500 mg of lapatinib daily or 25 mg/m² of vinorelbine weekly and 1500 mg of intermittent lapatinib as MTD. We have performed a simulation with these dose levels. This simulation demonstrated grade 3-4 neutropenia with 1250 mg or 1500 mg of lapatinib daily and 25 mg/m² of vinorelbine weekly. The corresponding time to reach nadir of ANC on day 8 is consistent with the time of nadir for other chemotherapy treatments.

The TGI model adequately described the tumor growth time course. No significant covariate effect on structural parameters was observed. Nevertheless, a strong trend was found between lapatinib dose increase and tumor growth rate decrease (K_g). These results provide further information regarding the clinical relevance of this potential interaction and inhibitory effects on the metabolizing enzymes and transporters.

A statistically significant effect of lapatinib could not be shown in this study, probably because there was no patient group without lapatinib and the lapatinib doses, 750 to 1250 mg/24h, were in a too narrow range to detect a significant effect between these subgroups.

Conclusions

Since many anti-cancer drugs have steep dose-response relationships even small

deviations in exposure may be of major importance for the final effect. Therefore, cancer chemotherapy can benefit from the exploitation of pharmacokinetic and pharmacodynamic relationships. Moreover, the increasing use of the combination of new targeted therapies and conventional chemotherapy can increase the between subject variability (BSV). Population PK-PD modeling that includes significant covariates can explain part of BSV, and be useful in the design of dosing strategies, not only for MTD purposes but also for the determination of initial doses especially for this kind of drug combination.

In summary semi-mechanistic models showed good performance in describing the hematological toxicity and tumor shrinkage efficacy of the vinorelbine-lapatinib combination. These results strongly suggest a PK-PD interaction (not statistically significant) between lapatinib and vinorelbine possibly due to CYP450-3A4 interaction. The combination of lapatinib and vinorelbine (consistent with PK interaction of vinorelbine and/or a direct pharmacodynamic effect of lapatinib) could alter the hematological tolerance and improve the tumor response. Therefore, clinicians should consider the possibility of drug interaction when using a combination of conventional chemotherapy and targeted therapy.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge UNICANCER Early Phase Group for their support and contribution into management of this study. We would also like to acknowledge GSK laboratories for their support.

REFERENCES

- 1 Zhou XJ, Rahmani R. Preclinical and clinical pharmacology of vinca alkaloids. *Drugs* 1992;44 Suppl 4:1-16; discussion 66-9.
- 2 Gregory RK and Smith IE. Vinorelbine: a clinical review. *Br J Cancer* 2000; 82:1907-13.
- 3 Besenval M, Delgado M, Demarez JP, Krikorian A. Safety and tolerance of Navelbine in phase I-II clinical studies. *Semin Oncol* 1989; 16: 37-40.
- 4 Gomez HL, Chavez MA, Doval DC. Results from a phase II randomized study of lapatinib as first-line treatment for patients with ErbB2-amplified advanced or metastatic breast cancer. *Breast cancer Res Treat* 2006; 100:S68. Abstract 1090.
- 5 Gomez HL, Doval DC, Chavez MA, Ang PC, Aziz Z, Nag S, et al. Efficacy and safety of lapatinib as first-line treatment for patients with ErbB2-amplified advanced or metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26:2999-3005.
- 6 Teng WC, Oh JW, New LS, Wahlin MD, Nelson SD, Ho HK, et al.. Mechanism-Based inactivation of cytochrome P450 3A4 by lapatinib. *Molecular Pharmacology* 2010; 78:693-703.
- 7 Beulz-Riche D, Grude P, Puozzo C, Sautel F, Filaquier C, Riche C, et al. Characterization of human cytochrome P450 isoenzymes involved in the metabolism of vinorelbine. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19: 545-53.
- 8 Rezai K, Urien S, Isambert N, Roche H, Dieras V, Berille J, et al. Pharmacokinetic evaluation of the vinorelbine-lapatinib combination in the treatment of breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 1529-36.
- 9 Evans WE, Relling MV, Rodman JH, Crom WR, Boyett JM, Pui CH. Conventional compared with individualized chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1998; 338: 499-505.
- 10 Jodrell DI, Egorin MJ, Canetta RM, Langenberg P, Goldbloom EP, Burroughs JN, et al. Relationships between carboplatin exposure and tumor response and toxicity in patients with ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1992; 10: 520-8.
- 11 Loos WJ, Gelderblom H, Sparreboom A, Verweij J, de Jonge MJ. Inter- and inpatient variability in oral topotecan pharmacokinetics: implications for body-surface area dosage regimens. *Clin Cancer Res.* 2000;6:2685-9.
- 12 Kuhn E., Lavielle M. Maximum likelihood estimation in nonlinear mixed effects models. *Comput. Stat. Data Analysis* 2005; 49:1020-30.
- 13 R Development Core Team. R : A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computin, Vienna, Austria, 2009.

- 14 Brendel K, Comets E, Laffont C, Mentré F. Evaluation of different tests based on observations for external model evaluation of population analyses. *J Pharmacokinet pharmacodyn* 2010; 37:49-65.
- 15 Friberg LE, Henningsson A, Maas H, Nguyen L, and Karlsson MO. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4713-21.
- 16 Takatani H, Soda H, Fukuda M, Watanabe M, Kinoshita A, Nakamura T, et al. Levels of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in serum are inversely correlated with circulating neutrophil counts. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 988-91.
- 17 Claret L, Girard P, Hoff P.M, Van Cutsem E, Zuideveld K.P, Jorga K, et al. Model-based prediction of phase III overall survival in colorectal cancer on the basis of phase II tumor dynamics. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4103-8.
- 18 Brain E, Isambert N, Dalenc F, Diéras V, Bonnetterre J, Rezai K, et al. Phase I study of lapatinib plus vinorelbine in patients with locally advanced or metastatic breast cancer overexpressing HER2. *Br J Oncol* (in press).
- 19 Kloft C, Wallin J, Henningsson A, Chatelut E, Karlsson M.O. Population pharmacokinetic-pharmacodynamic model for neutropenia with patient subgroup identification: comparison across anticancer drugs. *Clin Cancer Res*. 2006;12:5481-90
- 20 Sandstrom M, Lindman H, Nygren P, Johansson M, Bergh J, Karlsson M.O. Population analysis of the pharmacokinetics and the haematological toxicity of the fluorouracil-epirubicin-cyclophosphamide regimen in breast cancer patients *Cancer Chemother Pharmacol*. 2006;58:143-56
- 21 Nguyen L, Tranchand B, Puozzo C, Variol P. Population pharmacokinetics model and limited sampling strategy for intravenous vinorelbine derived from phase I clinical trials. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 53: 459-68.
- 22 Chew H. K, Somlo G, Mack P. C, Gitlitz B, Gandour-Edwards R, et al. Phase I study of continuous and intermittent schedules of lapatinib in combination with vinorelbine in solid tumors. *Ann Oncol*. 2011 published online Jul 21 doi: 10.1093/annonc/mdr328.

Table 1 : Characteristics of the 29 patients

Parameter	Mean	Median	Range
Age (year)	59	57	37 - 76
Height (cm)	160	161	142 – 176
Bodyweight (kg)	65	62	45 – 110
Lean body mass (kg)	44	44	34 – 60
Ideal bodyweight (kg)	53	53	36 – 66.5
Body mass index (kg/m ²)	25.1	24	18.7 – 39
Body surface area (m ²)	1.67	1.62	1.40 – 2.22
Serum creatinin (μM)	62	62	47
Platelets count (x 10 ³ /mm ³)	294	271	151 – 539

Table 2: Final myelosuppression population model parameter Estimates

Final Myelosuppression model parameter Estimates			
Parameter	Covariate effect	Estimate (%rse)	BSV* (%rse)
NEU ₁₀ (.10 ⁹ /L)	NA	3.56 (5.0)	0.25 (16)
MTT (h)	NA	132 (2.0)	0.06 (30)
EC ₅₀ (μg/L)	NA	0.04 (16)	0.7 (19)
γ	γ = 0.22x βGCSF	0.22 (7.0)	0.24(26)
βGCSF		1.48 (4)	NA
Residual variability, additive	NA	0.922 (3)	NA

Key : NEU₁₀, Neutrophil baseline concentration; MTT, Mean Transit Time;
 EC₅₀, drug concentration which reduce the proliferation rate by 50%;
 γ feedback loop constant ; %rse, percent relative standard error ;
 BSV, between-patients variability (η) NA, Not Applicable

Table 3: Final tumor growth model parameter Estimates

Tumor growth model parameter Estimates		
Parameter	Estimate (%rse)	BSV* (%rse)
Tumor growth rate K_g (week ⁻¹)	0.008 (46)	1.48 (25)
Cell kill rate K_d (week ⁻¹ /AUC unit*)	3.8 (27)	1.12 (21)
Resistance appearance constant λ (week ⁻¹)	0.29 (26)	0.91 (26)
Residual variability., additive	0.102 (9)	NA

* AUC unit: µg/L.h

Key: %rse, percent relative standard error ;
BSV, between-patients variability (η)

Figure legends

Figure 1: Observed and model-predicted individual PNN-time courses before and after GCSF administration. (o) observed PNN counts; (solide line) mean population prediction ; (dashed line) individual (Bayesian) prediction.

Figure 2: Goodness-of-fit plots, Observations vs. model predictions versus mean population predictions (left panel) and observed measurements (DV) versus individual (conditional) predictions (right panel).

Figure 3: Observed and model-predicted individual tumor-time courses. (o) observed tumor measurements; (solide line) mean population prediction ; (dashed line) individual (Bayesian) prediction.

Figure. 1.

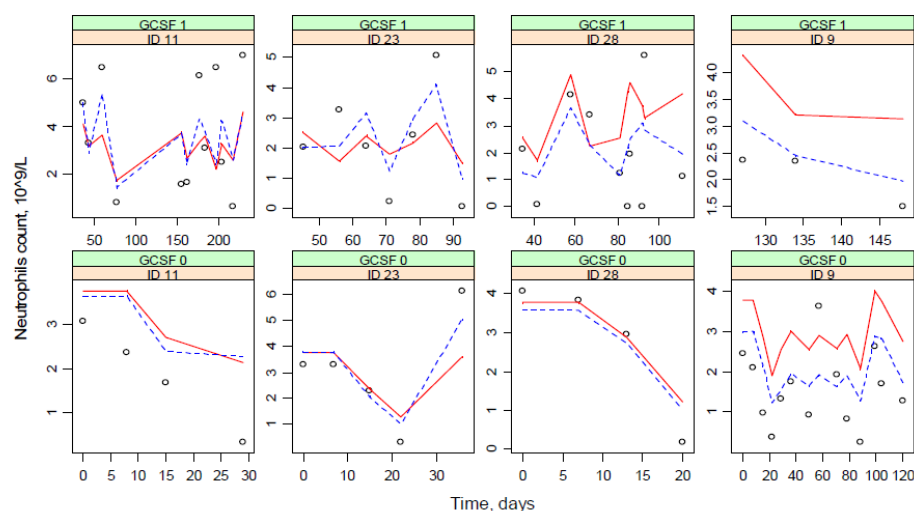


Figure. 2.

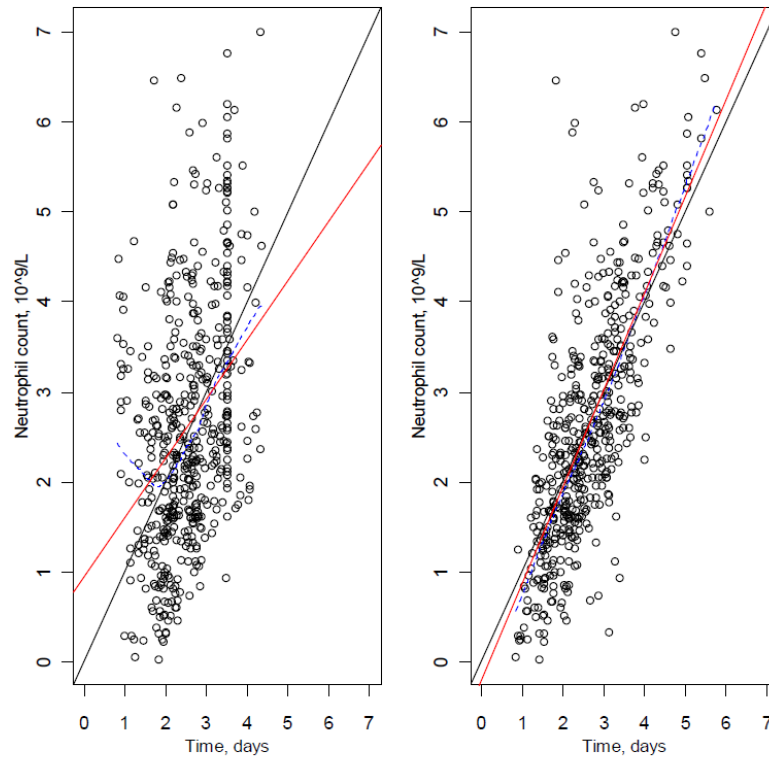
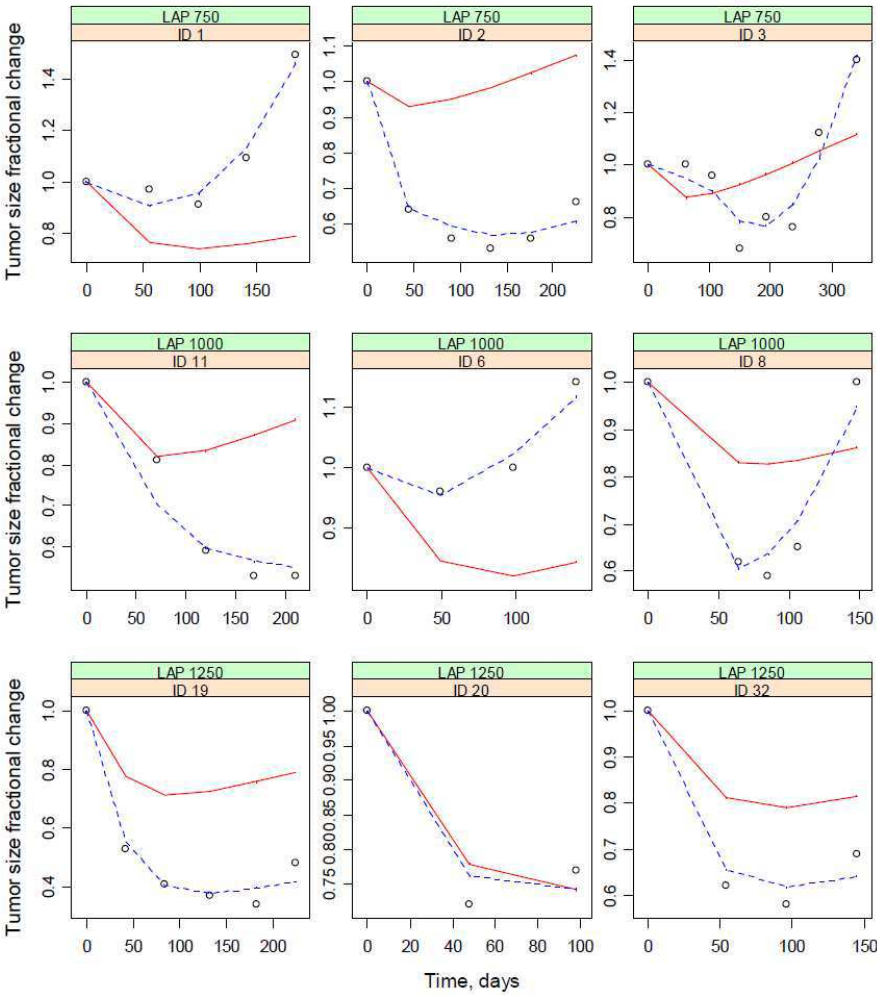


Figure. 3.



IV- DISCUSSION

Le fil conducteur de ce travail était de montrer l'influence des variabilités interindividuelles sur les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des médicaments anticancéreux et en particulier lors d'une étude clinique de phase I d'association du lapatinib et de la vinorelbine. Traditionnellement, les études cliniques de phase I des nouveaux agents anticancéreux ont pour but d'établir la dose recommandée pour les études de phase II avec un nombre de patients limité (1 à 6 patients par palier de doses). Cela diminue la probabilité de mettre en évidence les variabilités PK interindividuelles. Cependant, le nombre de patients traités augmente durant les études de phase II et III ce qui permet éventuellement de saisir les patients avec une PK extrême, mais malheureusement dans la plupart des cas, les données PK correspondantes manquent lors de ces études pour expliquer les résultats cliniques inattendus [84]. Cette lacune pourrait être évitée en augmentant le nombre de patients lors des études clinique de phase I et en ayant recours à un domaine spécifique de la pharmacologie clinique qu'est la pharmacocinétique de population.

En effet, l'approche populationnelle en pharmacologie vise à évaluer quantitativement les paramètres pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques typiques d'une population donnée ainsi que leurs variabilités interindividuelles et/ou résiduelles [85]. La variabilité pharmacocinétique et/ou pharmacodynamique est affectée par plusieurs facteurs qui sont :

1. Des facteurs démographiques tels le sexe, le poids, la surface corporelle, l'âge et la race [86].
2. Des facteurs environnementaux comme le tabac, le régime alimentaire et l'exposition aux polluants.

3. Des facteurs génétiques qui influencent la clairance des médicaments via le métabolisme hépatique (polymorphisme des CYP450).
4. Des interactions médicamenteuses.
5. Des facteurs physiologiques et physiopathologiques comme la grossesse, dysfonctionnement hépatique ou rénal et d'autres maladies.
6. D'autres facteurs comme le rythme circadien, l'effet des aliments, l'heure des repas...

Durant cette étude et pour cette population de patientes, nous avons réussi à modéliser de manière très satisfaisante l'évolution des concentrations sanguines de la vinorelbine par un modèle tri-compartimental déjà utilisé par d'autres auteurs [21, 23, 33].

Cette modélisation nous a permis de définir deux covariables (le poids et le nombre de plaquettes) qui influencent de manière significative les paramètres pharmacocinétiques de la vinorelbine. La prise en compte de ces deux covariables nous a permis d'expliquer les variabilités interindividuelles observées. En effet, plus le poids de la patiente est élevé plus la clairance totale de la vinorelbine est élevée. En revanche, plus le nombre des plaquettes augmente plus la clairance totale de la vinorelbine diminue ce qui semble logique compte tenu de la forte fixation de la vinorelbine sur les plaquettes [27].

L'obtention du modèle pharmacocinétique final nous a permis d'estimer de manière très précise la clairance de la vinorelbine à 24,9 L/h pour cette population de patientes. Cette valeur de clairance est beaucoup plus faible que celles publiées dans la littérature (cf. tableau 18 page 83). Cette différence pourrait être expliquée par l'existence d'une interaction pharmacocinétique entre le lapatinib et la vinorelbine. Cette interaction pharmacocinétique serait due au fait que le lapatinib,

qui est un puissant inhibiteur des CYP3A4, diminuerait le métabolisme de la vinorelbine en bloquant ces mêmes enzymes. Cette diminution du métabolisme enzymatique a pour conséquence une diminution de l'élimination de la vinorelbine, en d'autres termes une diminution de sa clairance sanguine. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons considéré le lapatinib comme étant une covariable catégorielle et nous avons tenté de vérifier son influence sur les paramètres pharmacocinétiques de la vinorelbine et sur la diminution des variabilités interindividuelles observées. Nous avons observé une forte tendance entre l'augmentation de la dose du lapatinib et la diminution de la clairance de la vinorelbine. Malheureusement, nous n'avons pas pu confirmer cette tendance de manière statistiquement significative car dans cette étude nous n'avons pas de patientes qui soient leurs propres témoins c'est-à-dire des patientes qui ont reçu de la vinorelbine seule avec des prélèvements pharmacocinétiques avant l'association avec le lapatinib.

Par ailleurs, le nombre très faible de patientes au premier palier de dose du lapatinib (3) ne nous permet pas de mettre en évidence une différence significative entre ce palier et les deux autres pour l'influence du lapatinib sur la clairance de la vinorelbine. Cependant, cette faible valeur de la clairance nous mène à la comparer avec d'autres valeurs de clairance de la vinorelbine (en mono chimiothérapie) obtenues lors des études cliniques ayant utilisé des approches populationnelles semblables à la notre [38, 67]. En effet, un test statistique (test *t* de *student*) comparant la valeur de la clairance estimée par notre étude avec celles des deux autres études montre une baisse significative ($p < 0,001$) de la clairance de la vinorelbine lorsque cette dernière est associée au lapatinib.

Ceci confirme l'existence d'une interaction pharmacocinétique entre ces deux médicaments.

Nous avons également réussi à modéliser l'évolution des concentrations plasmatiques du lapatinib par un modèle mono-compartmental.

A notre connaissance, il n'y a qu'une seule équipe qui a utilisé la même approche de pharmacocinétique de population afin de modéliser l'évolution des concentrations plasmatiques du lapatinib en fonction du temps et d'estimer les paramètres pharmacocinétique de population [52].

Ce modèle nous permet d'estimer les valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques du lapatinib dans cette population de patientes avec une très grande précision (cf. tableau 20 page 89). Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles déjà publiées. En effet, nous avons estimé la valeur de la clairance apparente du lapatinib dans notre étude à 16,5 L/h/m² contre 12,1 L/h/m² estimée par Thiessen et al. pour une population de 16 patients [52]. Le volume apparent de distribution du lapatinib est estimé à 357 L ce qui signifie que le lapatinib n'est pas confiné au compartiment sanguin et qu'il diffuse vers les tissus profonds.

Étant donné que nous avons observé une interaction pharmacocinétique entre ces deux médicaments (influence du lapatinib sur la clairance de la vinorelbine), nous avons vérifié l'existence d'une influence de la coadministration de la vinorelbine sur les paramètres pharmacocinétiques du lapatinib. Nous n'avons observé aucun effet de la vinorelbine sur le comportement pharmacocinétique du lapatinib.

Afin d'identifier des sources de variabilités pharmacodynamiques, nous avons tenté de modéliser d'abord la toxicité dose limitante de cette association qui se caractérise

par une neutropénie de grade 3 ou 4 [87] et ensuite l'efficacité de cette association par la diminution de la taille tumorale.

Nous nous sommes basés sur un modèle pharmacodynamique utilisé par Friberg et al. pour modéliser la myélосuppression induite par la vinorelbine [73]. Ce modèle qui est constitué de cinq compartiments (un compartiment de prolifération, trois compartiments de transit et un compartiment de circulation) décrit de manière très satisfaisante l'évolution du nombre de polynucléaires neutrophiles en fonction du temps et en fonction de la dose de vinorelbine administrée. Ce modèle nous permet d'estimer avec précision la valeur de base du nombre des polynucléaires neutrophiles dans cette population de patientes, ce qui n'est pas le cas des autres études ayant utilisé le même modèle pour décrire la myélосuppression induite par la vinorelbine [88]. Lorsque l'on compare les valeurs de la constante de transit (K_{tr}) et de facteur de rétrocontrôle (γ) obtenues par cette étude aux valeurs publiées par Friberg [73] et Kloft [89] pour plusieurs médicaments anticancéreux comme docétaxel, paclitaxel, étoposide, CPT-11 et vinflunine, nous constatons que la valeur de K_{tr} reste inchangée alors que la valeur estimée de γ augmente très légèrement dans notre étude. Ceci est du à l'influence significative du GCSF sur la boucle de rétrocontrôle en accélérant la prolifération des cellules progénitrices. Une augmentation de la valeur de γ en présence de GCSF reflète un réel changement dans la capacité homéostatique de la moelle osseuse [90] alors qu'une diminution de cette valeur en l'absence de GCSF pourrait être due à la coadministration du lapatinib.

Le modèle de l'inhibition de la croissance tumorale décrit très bien l'évolution de la taille tumorale. Comme illustré sur la figure 22 (page 108), les prévisions du modèle (nombre de progression, maladie stable, réponse partielle) corrélaient très bien avec

les résultats cliniques. Même si aucun effet significatif des covariables, notamment celui du lapatinib, sur les paramètres structurels du modèle n'est mis en évidence, une très forte tendance est trouvée entre l'augmentation de la dose de lapatinib et la diminution du taux de croissance tumorale suggérant ainsi une synergie d'action entre ces deux molécules. Un test de Fisher comparant les résultats cliniques observés par les cliniciens pour chaque palier de dose de lapatinib ne montre aucune différence significative (voir annexe 17). Cependant, le groupe de patientes ayant reçu la dose de 1000 mg de lapatinib par jour montre un effet significatif de ce dernier sur la diminution du taux de croissance et une diminution des variabilités interindividuelles. Ce résultat peut paraître surprenant car le palier de dose de 1250 mg / jour du lapatinib (le palier supérieur) ne montre pas ce même effet significatif. Cela pourrait s'expliquer par le faible nombre de patientes incluses au palier 1250 mg et également par le fait que dans le groupe du lapatinib à 1000 mg, trois patientes ont reçu 25 mg/m² de vinorelbine alors que dans les autres groupes la dose la plus élevée de vinorelbine administrée était de 22,5 mg/m².

V- CONCLUSIONS

L'utilisation de la chimiothérapie anticancéreuse est dominée par un problème de fond en cancérologie qui est celui de la variabilité. Variabilité qui se manifeste tant au niveau de la réponse thérapeutique qu'à celui de la tolérance au traitement. Les variabilités interindividuelles sont importantes pour la compréhension des différences de résultats observés chez les patients [84] ; Ces travaux nous ont permis d'aborder différents aspects de la modélisation en pharmacologie de population dans le domaine des anticancéreux et plus spécifiquement lors de l'association du lapatinib et de la vinorelbine dans le traitement des patientes atteintes de cancer du sein métastatique. En effet, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de population sont des outils extrêmement puissants qui peuvent aider les cliniciens dans leurs choix thérapeutiques en démasquant les sources des variabilités tant au niveau de la réponse thérapeutique qu'à celui de la tolérance au traitement.

Le premier volet de ces travaux a consisté à mesurer les concentrations sanguines de ces deux molécules chez les patientes et à les utiliser pour la modélisation pharmacocinétique. Cette modélisation a clairement montré l'influence du poids et du nombre des plaquettes sur la pharmacocinétique de la vinorelbine permettant ainsi de diminuer les variabilités pharmacocinétiques. Elle a également mise en évidence l'influence du lapatinib sur la pharmacocinétique de la vinorelbine. Cependant, compte tenu de l'absence de groupe témoin, nous n'avons pas réussi à obtenir une significativité statistique pour ces résultats. En parallèle, aucune influence de la vinorelbine sur le comportement pharmacocinétique du lapatinib n'a été mise en évidence.

Le second volet a concerné la modélisation de la réponse et de la tolérance des patientes pour cette association médicamenteuse (modélisation

pharmacodynamique). La neutropénie a été détectée comme étant la toxicité dose-limitante et étant donné que le lapatinib n'est pas connu pour être myélotoxique, nous avons modélisé cette toxicité par rapport au comportement pharmacocinétique de la vinorelbine. Là encore, nous avons observé une très forte tendance quant à l'influence du lapatinib sur la myélotoxicité de la vinorelbine. Concernant l'efficacité de cette association, la modélisation de l'évolution de la croissance tumorale a mis en évidence une synergie d'action entre ces deux molécules. A notre connaissance c'est la première fois qu'une telle modélisation tant du point de vue de la tolérance que de celui de la réponse a été mise en œuvre lors d'une association de chimiothérapie classique et d'une thérapeutique ciblée.

Les perspectives de ce travail permettent aux oncologues de bénéficier de l'exploitation PK-PD notamment en ce qui concerne de nouvelles associations de médicaments anticancéreux. La modélisation PK-PD permet d'explorer le lien supposé entre paramètres de toxicité et les différentes voies de métabolisme enzymatique et de déceler une interaction médicamenteuse. La modélisation PD permet également de confirmer ou non la synergie d'action antitumorale supposée entre une chimiothérapie classique et une thérapeutique ciblée.

Décrit depuis longtemps, les interactions médicamenteuses peuvent affecter chaque étape de l'utilisation d'un médicament. Les oncologues doivent non seulement prendre en compte la liste des médicaments que peuvent prendre les patients, à chaque fois qu'ils prescrivent un traitement anticancéreux, mais aussi ils doivent considérer les conséquences pharmacocinétiques et pharmacodynamiques à chaque fois qu'ils utilisent un nouveau médicament, un nouveau schéma d'administration ou une nouvelle association médicamenteuse.

La modélisation PK-PD de population des médicaments anticancéreux peut apporter une aide précieuse aux cliniciens dans ce domaine. Elle peut également être essentielle dans la prise de décision clinique précoce. Nous pouvons donc maintenant répondre positivement à D.R. Newel qui demandait en 1994 « les études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques peuvent-elles améliorer la thérapie anticancéreuse ? » [91].

C- ANNEXES

Annexe 1 Model direct de l'influence du lapatinib

\$PROBLEM Infusion with three compartments,

\$MODEL

COMP = (Qc)

COMP = (Qp1)

COMP = (Qp2)

\$PSI CL V1 Q2 V2 Q3 V3 LAP50

\$REG LAP THO1 RAT1

\$EQUATION

efflap = 1 - LAP/(LAP+LAP50)

k13 = Q3/V1

k31 = Q3/V3

k12 = Q2/V1

k21 = Q2/V2

k10 = efflap*CL/V1

pi=3.141593

e1= k10 + k12 + k13

e2= k21 ;; +k20

e3= k31 ;; + k30

ax= k12*k21

a1= -ax + e1*e2 + k31*(e1 - k13 + e2)

a0= k31*(-ax + e2*(e1 - k13))

a2= e1+k31+e2

;;SOLUTION EQ 3RD # DE VIETE

Q = (a2*a2 - 3*a1)/9

d = (2*a2^3 - 9*a2*a1 + 27*a0)/54

b3 = Q*Q*Q

b1 = d/sqrt(b3)

dt = atan(sqrt(1 - b1*b1)/b1)

b2 = -2*sqrt(Q)

a = abs(b2*cos(dt/3) - a2/3)

b = abs(b2*cos((dt+2*pi)/3) - a2/3)

c = abs(b2*cos((dt+4*pi)/3) - a2/3)

d0=a*b*c

d1=(b-a)*(c-a)*(-a)

d2=(a-b)*(c-b)*(-b)

d3=(a-c)*(b-c)*(-c)

c0=e2*e3/d0

```

c1=(e2-a)*(e3-a)/d1
c2=(e2-b)*(e3-b)/d2
c3=(e2-c)*(e3-c)/d3

aa=exp(-a*T)
bb=exp(-b*T)
cc=exp(-c*T)
y1=c0+c1*aa+c2*bb+c3*cc
;;y2=k21*(e3/d0+(e3-a)*aa/d1+(e3-b)*bb/d2+(e3-c)*cc/d3 )
;;y3=k31*(e2/d0+(e2-a)*aa/d1+(e2-b)*bb/d2+(e2-c)*cc/d3 )

if ( T > THO1) then
  tt = T - THO1
else
  tt = T
end

if ( T > THO1) then a9=exp(-a*tt)
if ( T > THO1) then b9=exp(-b*tt)
if ( T > THO1) then c9=exp(-c*tt)
if ( T > THO1) then y2=c0+c1*a9+c2*b9+c3*c9
;;y2=k21*(e3/d0+(e3-a)*a9/d1+(e3-b)*b9/d2+(e3-c)*c9/d3 )
;;y3=k31*(e2/d0+(e2-a)*a9/d1+(e2-b)*b9/d2+(e2-c)*c9/d3 )

if ( T > THO1) then
  cp = y1 - y2
else
  cp = y1
end

$OUTPUT
OUTPUT1 = max(RAT1/V1*cp,0)

```

Annexe 2 Model E_{\max} de l'influence du lapatinib

\$PROBLEM Infusion with three compartments, Michaelis Menten elimination and parameters: V, k12, k21, k13, k31, Vm, Km

\$MODEL

COMP = (Qc)

COMP = (Qp1)

COMP = (Qp2)

\$PSI CL V1 Q2 V2 Q3 V3 LAP50 Emax

\$REG LAP

\$PK

efflap = $1 - E_{\max} \cdot \text{LAP} / (\text{LAP} + \text{LAP50})$

k13 = $Q3 / V1$

k31 = $Q3 / V3$

k12 = $Q2 / V1$

k21 = $Q2 / V2$

k10 = efflap * CL / V1

\$ODE

DDT_Qc = $-k10 \cdot Qc - k12 \cdot Qc + k21 \cdot Qp1 - k13 \cdot Qc + k31 \cdot Qp2$

DDT_Qp1 = $k12 \cdot Qc - k21 \cdot Qp1$

DDT_Qp2 = $k13 \cdot Qc - k31 \cdot Qp2$

\$OUTPUT

OUTPUT1 = $Qc / V1$

Annexe 3 Model sigmoïdal de l'influence du lapatinib

\$MODEL

COMP = (Qc)

COMP = (Qp1)

COMP = (Qp2)

\$PSI CL V1 Q2 V2 Q3 V3 gam

\$REG LAP

\$PK

;efflap = 1 - LAP/750*slope

efflap = 1 - (LAP/750)**gam

k13 = Q3/V1

k31 = Q3/V3

k12 = Q2/V1

k21 = Q2/V2

k10 = efflap*CL/V1

\$ODE

DDT_Qc = -k10*Qc - k12*Qc + k21*Qp1 - k13*Qc + k31*Qp2

DDT_Qp1 = k12*Qc - k21*Qp1

DDT_Qp2 = k13*Qc - k31*Qp2

\$OUTPUT

OUTPUT1 = Qc/V1

Annexe 4 Model Lap50 de l'influence du lapatinib

\$MODEL

COMP = (Qc)

COMP = (Qp1)

COMP = (Qp2)

\$PSI CL V1 Q2 V2 Q3 V3 LAP50

\$REG LAP

\$PK

efflap = $1 - \text{LAP}/(\text{LAP} + \text{LAP50})$

k13 = $Q3/V1$

k31 = $Q3/V3$

k12 = $Q2/V1$

k21 = $Q2/V2$

k10 = $\text{efflap} * \text{CL}/V1$

\$ODE

DDT_Qc = $-k10 * Qc - k12 * Qc + k21 * Qp1 - k13 * Qc + k31 * Qp2$

DDT_Qp1 = $k12 * Qc - k21 * Qp1$

DDT_Qp2 = $k13 * Qc - k31 * Qp2$

\$OUTPUT

OUTPUT1 = $Qc/V1$

Annexe 5 Model Lap50 avec γ de l'influence du lapatinib

```
$MODEL  
COMP = (Qc)  
COMP = (Qp1)  
COMP = (Qp2)
```

```
$PSI CL V1 Q2 V2 Q3 V3 LAP50 gam
```

```
$REG LAP
```

```
$PK
```

```
efflap = 1/(1+(LAP/LAP50)**gam)
```

```
k13 = Q3/V1  
k31 = Q3/V3  
k12 = Q2/V1  
k21 = Q2/V2  
k10 = efflap*CL/V1
```

```
$ODE
```

```
DDT_Qc = -k10*Qc - k12*Qc + k21*Qp1 - k13*Qc + k31*Qp2  
DDT_Qp1 = k12*Qc - k21*Qp1  
DDT_Qp2 = k13*Qc - k31*Qp2
```

```
$OUTPUT  
OUTPUT1 = Qc/V1
```

Annexe 6 Model de base pour la Myélosuppression

\$MODEL

COMP = (Qc)

COMP = (Qp1)

COMP = (Qp2)

COMP = (PROL)

COMP = (TR1)

COMP = (TR2)

COMP = (TR3)

COMP = (TUMOR)

\$PSI base ktr Emx ic50 gg

\$REG BW PLAT

;;\$PSI CL V1 Q2 V2 Q3 V3

\$PK

pla=(250/PLAT)**1.1

bw = BW/70

bwc= bw**0.75

CL = 24.9*24*bwc*pla

V1 = 8.48*bw

Q2 = 50.7*24*bwc

V2 = 1320*bw

Q3 = 66.1*24*bwc

V3 = 62.4*bw

k13 = Q3/V1

k31 = Q3/V3

k12 = Q2/V1

k21 = Q2/V2

k10 = CL/V1

\$ODE

DDT_Qc = -k10*Qc - k12*Qc + k21*Qp1 - k13*Qc + k31*Qp2

DDT_Qp1 = k12*Qc - k21*Qp1

DDT_Qp2 = k13*Qc - k31*Qp2

CP = Qc/V1

;;effNAV = (1 - Emx)*ic50/(CP + ic50)

effNAV = 1 - Emx*CP/(CP + ic50)

PROL_0 = base

TR1_0 = base

TR2_0 = base
TR3_0 = base
TUMOR_0 = base

DDT_PROL = ktr*PROL*effNAV*(base/TUMOR)**gg - ktr*PROL
DDT_TR1 = ktr*(PROL - TR1)
DDT_TR2 = ktr*(TR1 - TR2)
DDT_TR3 = ktr*(TR2 - TR3)
DDT_TUMOR = ktr*(TR3 - TUMOR)

\$OUTPUT
OUTPUT1 = TUMOR

\$TABLE CP effNAV

Annexe 7 Model de base + effet de GCSF pour la Myélosuppression

```
$MODEL
COMP = (Qc)
COMP = (Qp1)
COMP = (Qp2)

COMP = (PROL)
COMP = (TR1)
COMP = (TR2)
COMP = (TR3)
COMP = (TUMOR)

$PSI base ktr Emx ic50 gg ktr_csf gg_csf

$REG BW PLAT GCSF

;,$PSI CL V1 Q2 V2 Q3 V3

$PK

pla=(250/PLAT)**1.1
bw = BW/70
bwc= bw**0.75
CL = 24.9*24*bwc*pla
V1 = 8.48*bw
Q2 = 50.7*24*bwc
V2 = 1320*bw
Q3 = 66.1*24*bwc
V3 = 62.4*bw

k13 = Q3/V1
k31 = Q3/V3
k12 = Q2/V1
k21 = Q2/V2
k10 = CL/V1

$ODE

DDT_Qc = -k10*Qc - k12*Qc + k21*Qp1 - k13*Qc + k31*Qp2
DDT_Qp1 = k12*Qc - k21*Qp1
DDT_Qp2 = k13*Qc - k31*Qp2
CP = Qc/V1

;,$effNAV = (1 - Emx)*ic50/(CP + ic50)

effNAV = 1 - Emx*CP/(CP + ic50)

PROL_0 = base
```

```
TR1_0 = base
TR2_0 = base
TR3_0 = base
TUMOR_0 = base
```

```
if (GCSF>1) then
  effg = gg_csf
else
  effg = 1
end
```

```
DDT_PROL = ktr*PROL*effNAV*(base/TUMOR)**(gg*effg) - ktr*PROL
DDT_TR1 = ktr*(PROL - TR1)
DDT_TR2 = ktr*(TR1 - TR2)
DDT_TR3 = ktr*(TR2 - TR3)
DDT_TUMOR = ktr*(TR3 - TUMOR)
```

```
$OUTPUT
OUTPUT1 = TUMOR
```

```
$TABLE CP effNAV
```

Annexe 8 Model de base + GCSF + lapatinib pour la Myélosuppression

```
$MODEL
COMP = (Qc)
COMP = (Qp1)
COMP = (Qp2)

COMP = (PROL)
COMP = (TR1)
COMP = (TR2)
COMP = (TR3)
COMP = (TUMOR)

$PSI base ktr Emx ic50 gg ktr_csf gg_csf g1000 g1250

$REG lap BW PLAT GCSF

;,$PSI CL V1 Q2 V2 Q3 V3

$PK

pla=(250/PLAT)**1.1
bw = BW/70
bwc= bw**0.75
CL = 24.9*24*bwc*pla
V1 = 8.48*bw
Q2 = 50.7*24*bwc
V2 = 1320*bw
Q3 = 66.1*24*bwc
V3 = 62.4*bw

k13 = Q3/V1
k31 = Q3/V3
k12 = Q2/V1
k21 = Q2/V2
k10 = CL/V1

$ODE

DDT_Qc = -k10*Qc - k12*Qc + k21*Qp1 - k13*Qc + k31*Qp2
DDT_Qp1 = k12*Qc - k21*Qp1
DDT_Qp2 = k13*Qc - k31*Qp2
CP = Qc/V1

;effNAV = (1 - Emx)*ic50/(CP + ic50)

effNAV = 1 - Emx*CP/(CP + ic50)

PROL_0 = base
```



```
TR1_0 = base
TR2_0 = base
TR3_0 = base
TUMOR_0 = base
```

```
if (GCSF>1) then
  effg = gg_csf
else
  effg = 1
end
if (lap==1000)
  eflap = g1000
else if (lap==1250)
  eflap = g1250
else
  eflap = 1
end
```

```
DDT_PROL = ktr*PROL*effNAV*(base/TUMOR)**(gg*effg*eflap) - ktr*PROL
DDT_TR1 = ktr*(PROL - TR1)
DDT_TR2 = ktr*(TR1 - TR2)
DDT_TR3 = ktr*(TR2 - TR3)
DDT_TUMOR = ktr*(TR3 - TUMOR)
```

```
$OUTPUT
OUTPUT1 = TUMOR
```

```
$TABLE CP effNAV eflap
```

Annexe 9 Model de base pour la croissance tumorale (SIMEONI)

\$PSI wt0 lam0 lam1 k2 k1 psi

\$REG THO1 RAT1

\$PK

CL = 24.9*24 ;; t in days

V1 = 8.48

Q2 = 50.7*24

V2 = 1320

Q3 = 66.1*24

V3 = 62.4

k13 = Q3/V1

k31 = Q3/V3

k12 = Q2/V1

k21 = Q2/V2

k10 = CL/V1

pi=3.141593

e1= k10 + k12 + k13

e2= k21 ;; +k20

e3= k31 ;; + k30

ax= k12*k21

a1= -ax + e1*e2 + k31*(e1 - k13 + e2)

a0= k31*(-ax + e2*(e1 - k13))

a2= e1+k31+e2

;;SOLUTION EQ 3RD # DE VIETE

Q = (a2*a2 - 3*a1)/9

d = (2*a2^3 - 9*a2*a1 + 27*a0)/54

b3 = Q*Q*Q

b1 = d/sqrt(b3)

dt = atan(sqrt(1 - b1*b1)/b1)

b2 = -2*sqrt(Q)

a = abs(b2*cos(dt/3) - a2/3)

b = abs(b2*cos((dt+2*pi)/3) - a2/3)

c = abs(b2*cos((dt+4*pi)/3) - a2/3)

d0=a*b*c

d1=(b-a)*(c-a)*(-a)

d2=(a-b)*(c-b)*(-b)

d3=(a-c)*(b-c)*(-c)

c0=e2*e3/d0

```

c1=(e2-a)*(e3-a)/d1
c2=(e2-b)*(e3-b)/d2
c3=(e2-c)*(e3-c)/d3

aa=exp(-a*T)
bb=exp(-b*T)
cc=exp(-c*T)
y1=c0+c1*aa+c2*bb+c3*cc
;;y2=k21*(e3/d0+(e3-a)*aa/d1+(e3-b)*bb/d2+(e3-c)*cc/d3 )
;;y3=k31*(e2/d0+(e2-a)*aa/d1+(e2-b)*bb/d2+(e2-c)*cc/d3 )

if ( T > THO1) then
  tt = T - THO1
else
  tt = T
end

if ( T > THO1) then a9=exp(-a*tt)
if ( T > THO1) then b9=exp(-b*tt)
if ( T > THO1) then c9=exp(-c*tt)
if ( T > THO1) then y2=c0+c1*a9+c2*b9+c3*c9
;;y2=k21*(e3/d0+(e3-a)*a9/d1+(e3-b)*b9/d2+(e3-c)*c9/d3 )
;;y3=k31*(e2/d0+(e2-a)*a9/d1+(e2-b)*b9/d2+(e2-c)*c9/d3 )

if ( T > THO1) then
  cp = y1 - y2
else
  cp = y1
end

```

eff = k2*(1 + cp)

\$ODE
STIFF

A_0(1) = wt0

```

den = ( 1 + (lam0/lam1*A(1))**psi )**(1/psi)
DADT(1) = lam0*A(1)/den - eff*A(1)
DADT(2) = eff*A(1) - k1*A(2)
DADT(3) = k1*(A(2) - A(3) )
DADT(4) = k1*(A(3) - A(4) )

```

wt = A(1) + A(2) + A(3) + A(4)

\$OUTPUT
OUTPUT1 = wt

\$TABLE cp eff den

Annexe 10 Model de base pour la croissance tumorale (CLARET)

\$MODEL

COMP = (Qc)

COMP = (Qp)

COMP = (Qq)

COMP = (auc)

COMP = (TUM)

\$PSI tum0 kgrowth kd resi;;; emx auc50 ;;; resi

\$PK

CL = 24.9*24 ;; t in day

V1 = 8.48

Q2 = 50.7*24

V2 = 1320

Q3 = 66.1*24

V3 = 62.4

k13 = Q3/V1

k31 = Q3/V3

k12 = Q2/V1

k21 = Q2/V2

k10 = CL/V1

\$ODE

STIFF

DDT_Qc = -(k10+k12+k13)*Qc + k21*Qp + k31*Qq

DDT_Qp2 = k12*Qc - k21*Qp

DDT_Qp3 = k13*Qc - k31*Qq

DDT_auc = max(Qc/V1, 0)

TUM_0 = tum0

resist = exp(-resi*T)

eff = auc ;;; 1 + emx*auc/(auc + auc50)

DDT_TUM = kgrowth*TUM - kd*eff*TUM*resist

\$OUTPUT

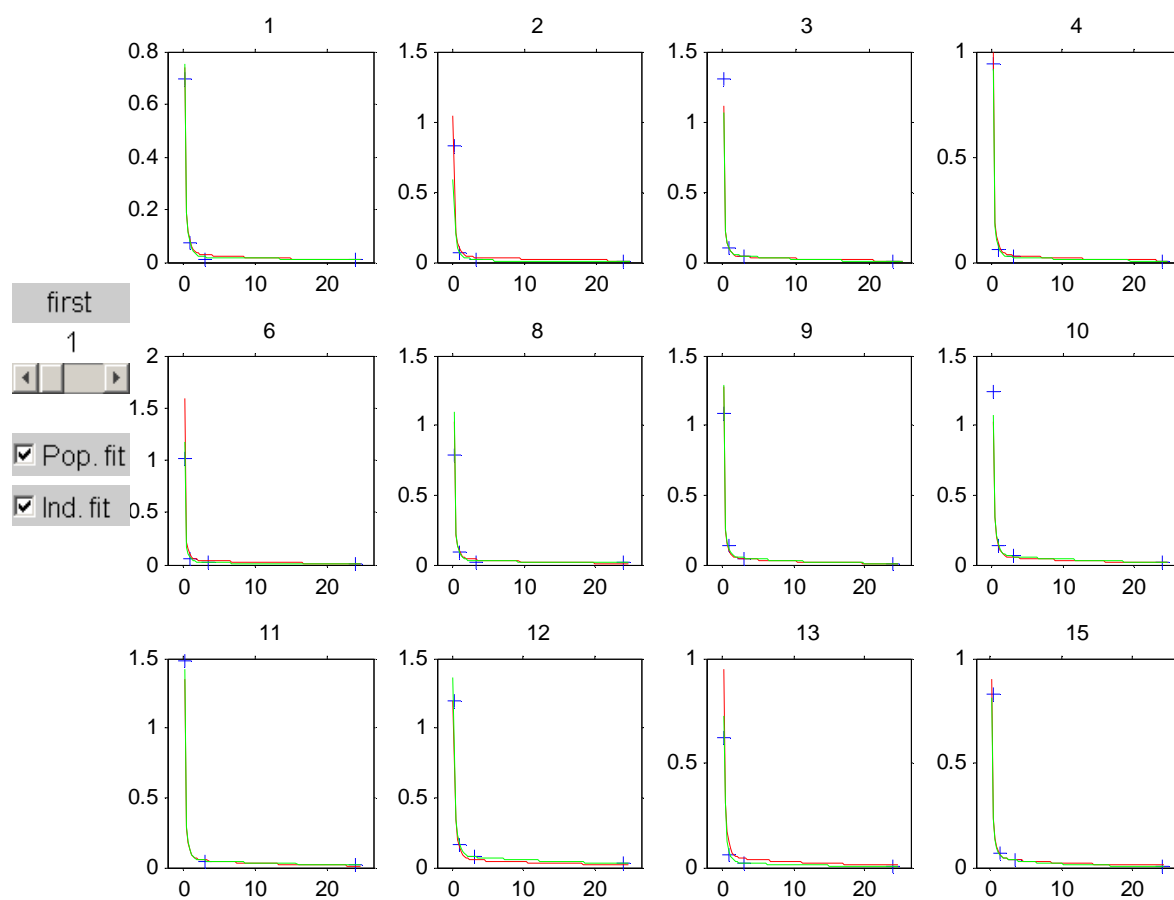
OUTPUT1 = TUM ;;;;100*auc

\$TABLE auc

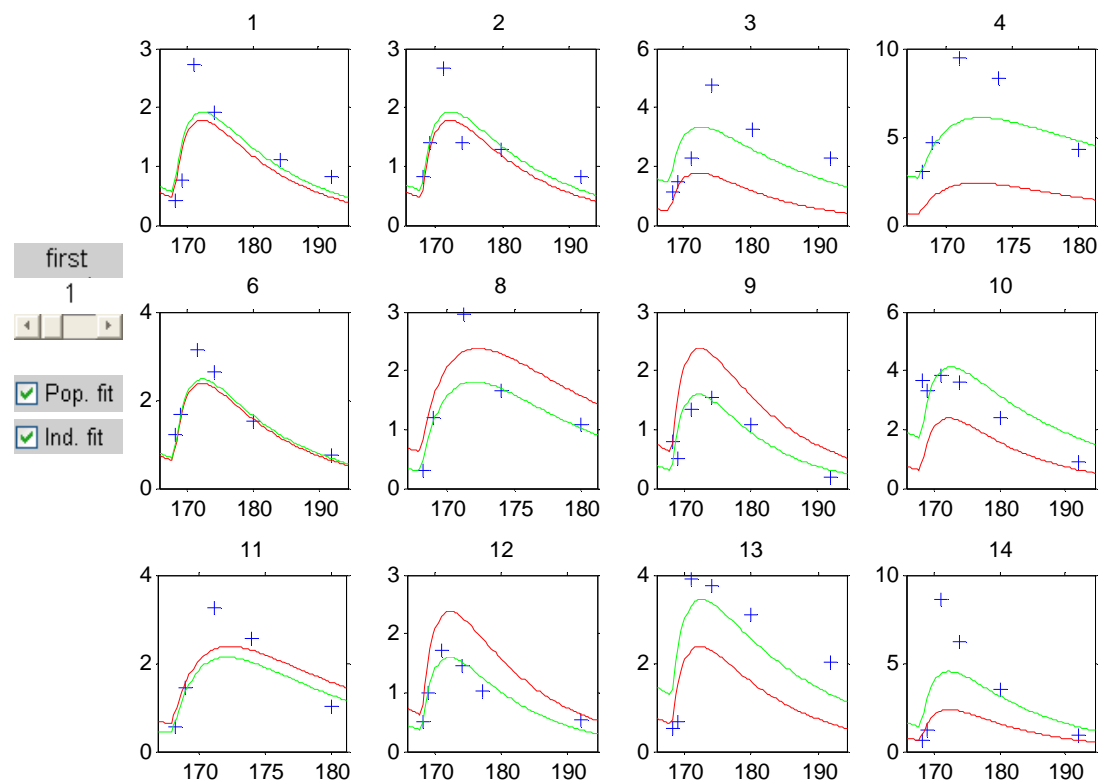
Annexe 11 Caractéristiques des patientes

Caractéristiques	Number of patients N (%)
Âge (années) Median (range)	58 (36-75)
Menopause at study entry	30 (90.9)
WHO performance status 0 1 Missing	15 (46.9) 17 (53.1) 1 (3.0)
Hormonal status ER-positive and / or PgR-positive ER-negative and PgR-negative Missing	13 (39.4) 18 (54.5) 2 (6.1)
HER2 status IHC 3+ IHC 2+ and FISH positive	28 (84.8) 5 (15.2)
Metastatic status Number of sites: median (range) Liver / lung / both Bone / bone only Brain / brain only	2 (1; 7) 18 / 13 / 7 14 / 1 5 / 1
Previous treatments Radiotherapy Hormonotherapy Trastuzumab 1 line Trastuzumab 2 lines Median number of lines of chemotherapy (range)	28 (84.8) 15 (45.5) 21 (63.6) 12 (36.4)* 2 (1; 5)

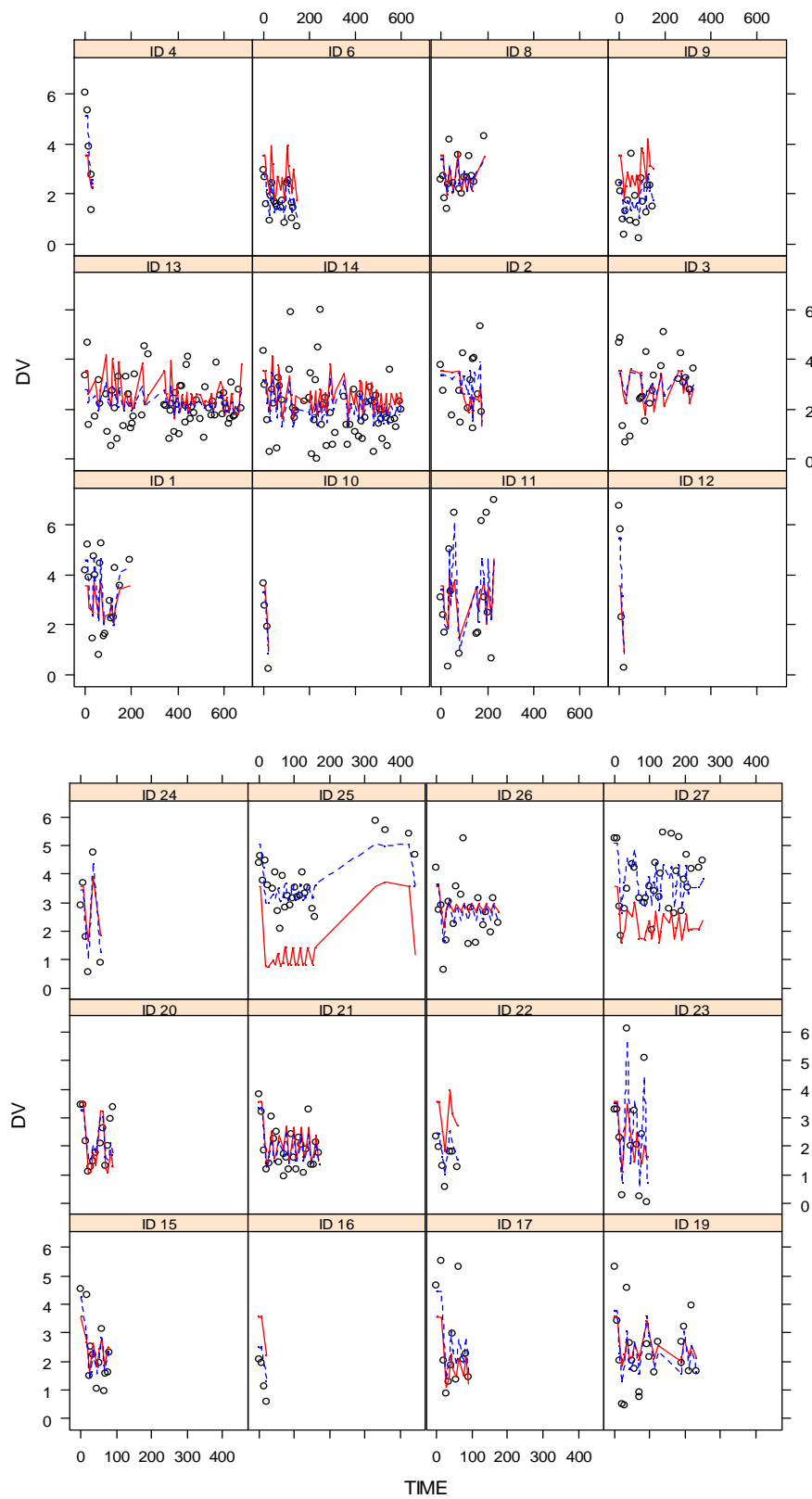
Annexe 12 Quelques exemples de PK de la vinorelbine ; valeurs observées (+) et prédictions individuelles (-) et de population (-).



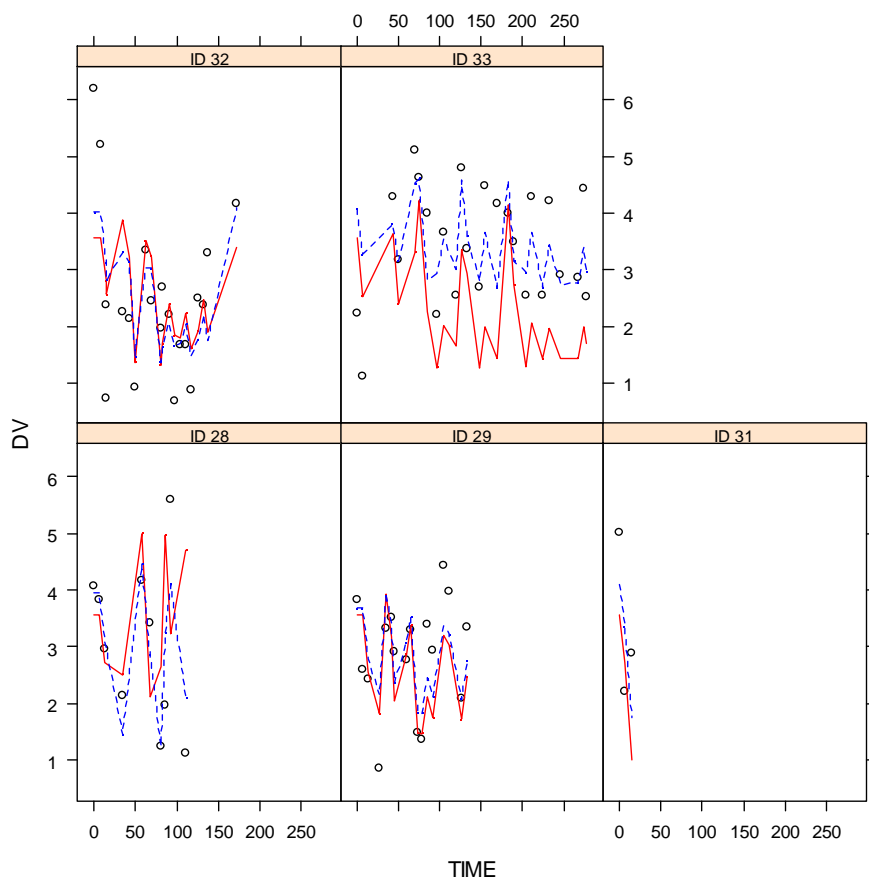
Annexe 13 Quelques exemples de PK du lapatinib; valeurs observées (+) et prédictions individuelles (-) et de population (-).



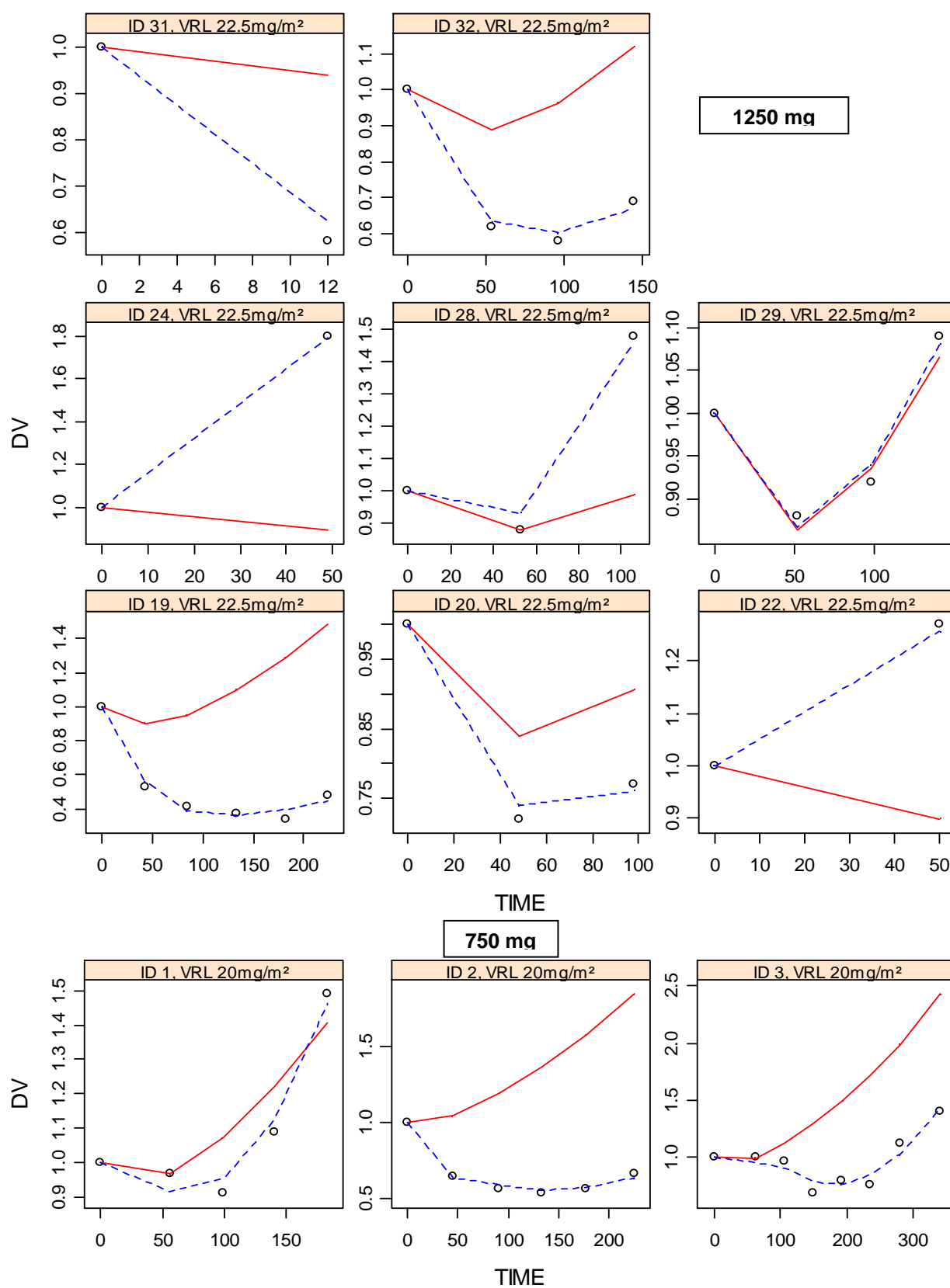
**Annexe 14a graphiques individuels de l'évolution des PNN en fonction du temps (observations
et prédictions individuelles bayésiennes et de population)**



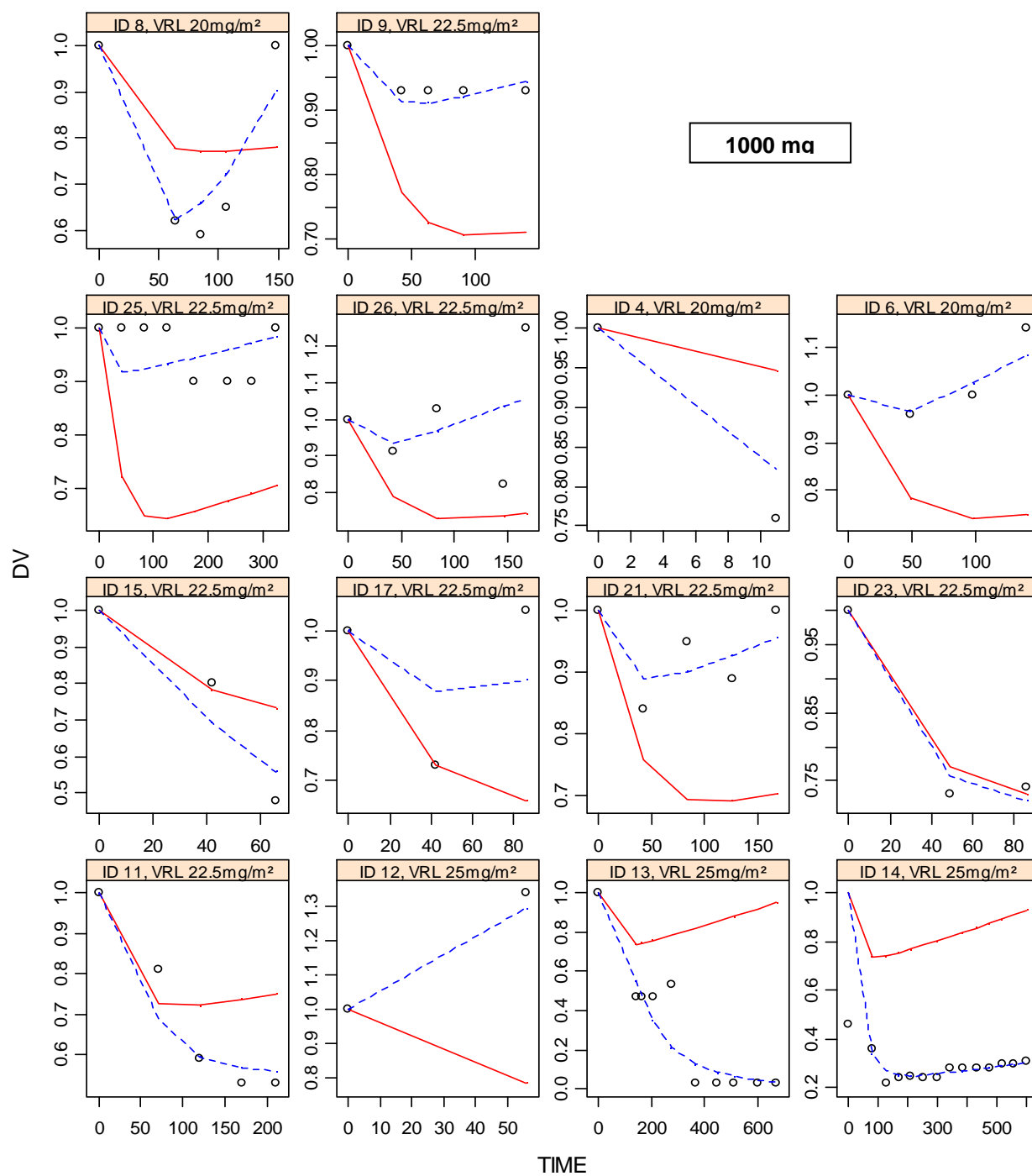
**Annexe 14b graphiques individuels de l'évolution des PNN en fonction du temps (observations
et prédictions individuelles bayésiennes et de population)**



Annexe 15a graphiques individuels de l'évolution de la croissance tumorale en fonction du temps pour lapatinib 1250 et 750 mg



Annexe 15b graphiques individuels de l'évolution de la croissance tumorale en fonction du temps pour lapatinib 1000 mg



Annexe 16 Résultats des modèles des PNN

* **PN_3tr_Lap750.mat**

* August 17, 2011 at 14:33:08

Estimation of the population parameters

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)
base	: 4.01	0.32	8
ktr	: 0.584	0.042	7
Emx	: 1	-	-
ic50	: 0.042	0.013	31
gg	: 0.392	0.061	15
omega_base	: 0.0464	0.11	241
omega_ktr	: 0.0404	0.067	165
omega_Em	: 0	-	-
omega_ic50	: 0.211	0.43	205
omega_gg	: 0.051	0.22	428
a	: 1.65	0.16	10

correlation matrix of the estimates(linearization)

base	1			
ktr	0.26	1		
ic50	-0.32	-0.19	1	
gg	-0.42	-0.77	-0.03	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.15 2.1 13

omega_base	1			
omega_ktr	0.09	1		
omega_ic50	-0.18	0.02	1	
omega_gg	-0.17	-0.62	-0.25	1
a	-0.13	-0.08	-0.08	0 1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.31 1.7 5.5

Elapsed time is 107 seconds.

CPU time is 301 seconds.

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	224.25
----------------------	--------

Akaike Information Criteria (AIC):	242.25
------------------------------------	--------

Bayesian Information Criteria (BIC):	234.14
--------------------------------------	--------

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling

Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	226.74	(0.024)
----------------------	--------	---------

Akaike Information Criteria (AIC):	244.74	(0.024)
------------------------------------	--------	---------

Bayesian Information Criteria (BIC):	236.62	(0.024)
--------------------------------------	--------	---------

Elapsed time is 85.6 seconds.

CPU time is 329 seconds.

* **PN_3tr_Lap1000.mat**

* August 17, 2011 at 14:55:38

Estimation of the population parameters

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)
base	: 3.61	0.26	7
ktr	: 0.767	0.038	5
Emx	: 1	-	-
ic50	: 0.0561	0.014	25
gg	: 0.216	0.03	14
omega_base	: 0.186	0.062	33
omega_ktr	: 0.0952	0.05	53
omega_Em	: 0	-	-
omega_ic50	: 0.606	0.24	40
omega_gg	: 0.208	0.16	79
a	: 1.72	0.068	4

correlation matrix of the estimates(linearization)

base	1			
ktr	0.06	1		
ic50	-0.23	0.01	1	
gg	-0.31	-0.34	-0.21	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.44 1.5 3.4

omega_base	1				
omega_ktr	0.01	1			
omega_ic50	-0.08	-0.01	1		
omega_gg	-0.13	-0.12	-0.09	1	
a	-0.06	-0.07	-0.07	-0.07	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.71 1.2 1.7

Elapsed time is 339 seconds.

CPU time is 1.19e+003 seconds.

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	1432.41
Akaike Information Criteria (AIC):	1450.41
Bayesian Information Criteria (BIC):	1457.91

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling

Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	1434.45	(0.14)
Akaike Information Criteria (AIC):	1452.45	(0.14)
Bayesian Information Criteria (BIC):	1459.95	(0.14)

Elapsed time is 562 seconds.

* **PN_3tr_Lap1250.mat**

* August 17, 2011 at 16:05:50

Estimation of the population parameters

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)
base	: 3.71	0.3	8
ktr	: 0.711	0.03	4
Emx	: 1	-	-
ic50	: 0.0411	0.0099	24
gg	: 0.212	0.027	13
omega_base	: 0.198	0.067	34
omega_ktr	: 0.059	0.047	80
omega_Em	: 0	-	-
omega_ic50	: 0.574	0.2	35
omega_gg	: 0.275	0.11	39
a	: 1.01	0.069	7

correlation matrix of the estimates(linearization)

base	1			
ktr	0.01	1		
ic50	-0.17	-0.07	1	
gg	-0.12	-0.18	-0.05	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.71 1.3 1.8

omega_base	1				
omega_ktr	-0	1			
omega_ic50	-0.04	-0.04	1		
omega_gg	-0.02	-0.03	-0.02	1	
a	-0.06	-0.11	-0.06	-0.07	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.81 1.1 1.4

Elapsed time is 126 seconds.

CPU time is 414 seconds.

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	414.87
Akaike Information Criteria (AIC):	432.87
Bayesian Information Criteria (BIC):	434.64

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling

Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	416.47	(0.093)
Akaike Information Criteria (AIC):	434.47	(0.093)
Bayesian Information Criteria (BIC):	436.25	(0.093)

Elapsed time is 176 seconds.

CPU time is 673 seconds.

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)
base	: 3.56	0.19	5
ktr	: 0.73	0.013	2
Emx	: 1	-	-
ic50	: 0.0418	0.0066	16
gg	: 0.218	0.015	7
ktr_csf	: 0.991	0.0016	0
gg_csf	: 1.48	0.085	6
omega_base	: 0.247	0.041	16
omega_ktr	: 0.0564	0.017	30
omega_Emx	: 0	-	-
omega_ic50	: 0.687	0.13	19
omega_gg	: 0.239	0.063	26
omega_ktr_csf	: 0	-	-
omega_gg_csf	: 0	-	-
a	: 0.91	0.031	3

base	1					
ktr	0.04	1				
ic50	-0.09	-0.04	1			
gg	-0.15	-0.19	-0.09	1		
ktr_csf	0.03	-0.02	-0.02	0.07	1	
gg_csf	-0.01	0	-0.04	-0.09	-0.66	1

omega_base	1				
omega_ktr	0	1			
omega_ic50	-0.01	-0.02	1		
omega_gg	-0.03	-0.04	-0.03	1	
a	-0.04	-0.09	-0.05	-0.07	1

.....

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.83 1.1 1.3

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	1472.33
Akaike Information Criteria (AIC):	1494.33
Bayesian Information Criteria (BIC):	1509.37

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling
Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	1499.60	(0.28)
Akaike Information Criteria (AIC):	1521.60	(0.28)
Bayesian Information Criteria (BIC):	1536.64	(0.28)*

[illegible]

* PN_3tr_PKFINAL-PN9-lap-cat.mat

Estimation of the population parameters

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)	p-value
base	: 3.54	0.18	5	
ktr	: 0.717	0.012	2	
Emx	: 1	-	-	
ic50	: 0.0426	0.0067	16	
gg	: 0.27	0.051	19	
beta_gg(t_LAP_1000)	: -0.15	0.21	141	0.48
beta_gg(t_LAP_1250)	: -0.219	0.23	103	0.33
ktr_csf	: 1	3.1e-005	0	
gg_csf	: 1	0.00025	0	
omega_base	: 0.244	0.04	17	
omega_ktr	: 0.0466	0.016	33	
omega_Em	: 0	-	-	
omega_ic50	: 0.669	0.13	19	
omega_gg	: 0.278	0.061	22	
omega_ktr_csf	: 0	-	-	
omega_gg_csf	: 0	-	-	
a	: 0.921	0.031	3	

correlation matrix of the estimates(linearization)

base	1						
ktr	0.07	1					
ic50	-0.1	-0.08	1				
gg	-0.05	-0.1	0.02	1			
beta_gg(t_LAP_1000)	-0	0.01	-0.07	-0.89	1		
beta_gg(t_LAP_1250)	-0.01	0.03	-0.04	-0.82	0.74	1	
ktr_csf	-0	0.07	-0.1	-0.01	0	0.06	1
gg_csf	-0.01	-0.23	0.08	0.02	-0.01	-0.06	-0.79
1							

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.089 2.6 30

omega_base 1

omega_ktr	0	1			
omega_ic50	-0.01	-0.02	1		
omega_gg	-0.02	-0.04	-0.03	1	
a	-0.04	-0.08	-0.06	-0.05	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.84 1.1 1.3

Estimation of the population parameters by groups

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)
gg_(t_LAP=750 *) :	0.27	0.051	19
gg_(t_LAP=1000) :	0.232	0.023	10
gg_(t_LAP=1250) :	0.217	0.028	13

Categorical covariates

t_LAP

Reference group: 750

Other groups: 1000, 1250

Elapsed time is 2.08e+003 seconds.

CPU time is 7.64e+003 seconds.

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	1498.17
Akaike Information Criteria (AIC):	1524.17
Bayesian Information Criteria (BIC):	1541.94

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling

Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	1510.76	(0.25)
Akaike Information Criteria (AIC):	1536.76	(0.25)
Bayesian Information Criteria (BIC):	1554.54	(0.25)

PN_3tr_PKFINAL-PN9-lap-cat1.mat

* November 29, 2011 at 19:21:51

Estimation of the population parameters

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)	p-value
base	: 3.56	0.18	5	
ktr	: 0.69	0.026	4	
beta_ktr(t_LAP_1000)	: 0.107	0.045	42	0.017
beta_ktr(t_LAP_1250)	: -0.000608	0.054	8.92e+003	0.99
Emx	: 1	-	-	
ic50	: 0.0411	0.0061	15	
gg	: 0.288	0.048	17	
beta_gg(t_LAP_1000)	: -0.293	0.19	64	0.12
beta_gg(t_LAP_1250)	: -0.289	0.2	71	0.16
ktr_csf	: 1.01	0.00088	0	
gg_csf	: 1.39	0.023	2	
omega_base	: 0.24	0.04	16	
omega_ktr	: 0.0312	0.023	74	
omega_Emx	: 0	-	-	
omega_ic50	: 0.661	0.12	18	
omega_gg	: 0.224	0.056	25	
omega_ktr_csf	: 0	-	-	
omega_gg_csf	: 0	-	-	
a	: 0.911	0.031	3	

correlation matrix of the estimates(linearization)

base	1						
ktr	-0	1					
beta_ktr(t_LAP_1000)	0.05	-0.85	1				
beta_ktr(t_LAP_1250)	0.02	-0.7	0.61	1			
ic50	-0.08	-0.06	0.03	0.05	1		
gg	-0.04	-0.3	0.25	0.21	0.01	1	
beta_gg(t_LAP_1000)	-0.03	0.27	-0.3	-0.19	-0.05	-0.88	1

beta_gg(t_LAP_1250)	-0.03	0.24	-0.21	-0.32	-0.03	-0.81	0.73
1							
ktr_csf	-0.05	0	-0.11	-0.11	-0.06	0	0.06
0.04	1						
gg_csf	-0.04	0	-0.14	-0.03	-0.02	0	0.03
-0	0.05	1					

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.073 3.3 46

omega_base	1					
omega_ktr	-0.01	1				
omega_ic50	-0.01	-0.03	1			
omega_gg	-0.03	-0.08	-0.02	1		
a	-0.04	-0.11	-0.05	-0.07	1	

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.81 1.1 1.4

Estimation of the population parameters by groups

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)
ktr_(t_LAP=750 *) :	0.69	0.026	4
ktr_(t_LAP=1000) :	0.768	0.018	2
ktr_(t_LAP=1250) :	0.69	0.027	4
gg_(t_LAP=750 *) :	0.288	-	-
gg_(t_LAP=1000) :	0.215	-	-
gg_(t_LAP=1250) :	0.216	-	-

Categorical covariates

t_LAP

Reference group: 750

Other groups: 1000, 1250

Elapsed time is 2.63e+003 seconds.

CPU time is 9.66e+003 seconds.

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	1472.92
Akaike Information Criteria (AIC):	1502.92
Bayesian Information Criteria (BIC):	1523.43

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling

Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	1493.93	(0.28)
Akaike Information Criteria (AIC):	1523.93	(0.28)
Bayesian Information Criteria (BIC):	1544.44	(0.28)

PN_3tr_PKFINAL-PN9-lap-cat2.mat

* November 29, 2011 at 20:17:43

Estimation of the population parameters

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)	p-value
base	: 3.55	0.18	5	
ktr	: 0.649	0.034	5	
beta_ktr(t_LAP_1000)	: 0.124	0.058	47	0.033
Emx	: 1	-	-	
ic50	: 0.0425	0.0063	15	
gg	: 0.337	0.058	17	
beta_gg(t_LAP_1000)	: -0.467	0.19	40	0.013
ktr_csf	: 1	0.00015	0	
gg_csf	: 1.48	0.051	3	
omega_base	: 0.241	0.04	16	
omega_ktr	: 0.0582	0.024	42	
omega_Emx	: 0	-	-	
omega_ic50	: 0.654	0.12	18	
omega_gg	: 0.226	0.058	26	
omega_ktr_csf	: 0	-	-	
omega_gg_csf	: 0	-	-	
a	: 0.908	0.031	3	

correlation matrix of the estimates(linearization)

base	1						
ktr	0.05	1					
beta_ktr(t_LAP_1000)	-0.01	-0.89	1				
ic50	-0.09	-0.07	0.05	1			
gg	-0.06	-0.39	0.35	0.06	1		
beta_gg(t_LAP_1000)	-0.01	0.36	-0.37	-0.1	-0.92	1	
ktr_csf	-0.05	-0	-0.07	-0.02	0	0.04	1
gg_csf	-0.06	-0	-0.07	-0.02	0	0.01	0.1
1							

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.058 2.7 46

omega_base	1				
omega_ktr	0	1			
omega_ic50	-0.01	-0.02	1		
omega_gg	-0.03	-0.09	-0.03	1	
a	-0.04	-0.09	-0.05	-0.06	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.81 1.1 1.4

Estimation of the population parameters by groups

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)
ktr_(t_LAP=750 *) :	0.649	0.034	5
ktr_(t_LAP=1000) :	0.735	0.019	3
gg_(t_LAP=750 *) :	0.337	-	-
gg_(t_LAP=1000) :	0.211	-	-

Categorical covariates

t_LAP

Reference group: 750

Other groups: 1000

1000= ["1000", "1250"]

Elapsed time is 2.08e+003 seconds.

CPU time is 7.66e+003 seconds.

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	1469.06
Akaike Information Criteria (AIC):	1495.06
Bayesian Information Criteria (BIC):	1512.83

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling

Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	1496.14	(0.28)
Akaike Information Criteria (AIC):	1522.14	(0.28)
Bayesian Information Criteria (BIC):	1539.91	(0.28)

PN_3tr_PKFINAL-PN9-lap-cat3.mat

* November 30, 2011 at 09:58:40

Estimation of the population parameters

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)	p-value
base	: 3.48	0.18	5	
ktr	: 0.679	0.019	3	
Emx	: 1	-	-	
ic50	: 0.0422	0.0059	14	
gg	: 0.312	0.062	20	
beta_gg(t_LAP_1000)	: -0.241	0.21	88	0.26
ktr_csf	: 1	7.7e-006	0	
gg_csf	: 1	2.4e-005	0	
omega_base	: 0.25	0.041	16	
omega_ktr	: 0.0774	0.026	34	
omega_Em	: 0	-	-	
omega_ic50	: 0.646	0.11	17	
omega_gg	: 0.3	0.066	22	
omega_ktr_csf	: 0	-	-	
omega_gg_csf	: 0	-	-	
a	: 0.904	0.031	3	

correlation matrix of the estimates(linearization)

base	1						
ktr	0.1	1					
ic50	-0.07	-0.03	1				
gg	-0.04	-0.12	0	1			
beta_gg(t_LAP_1000)	-0.03	-0.02	-0.03	-0.91	1		
ktr_csf	0.05	0.06	-0.06	-0.01	-0.04	1	
gg_csf	-0.05	0.02	0.03	-0	0.03	-0.82	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.077 1.9 25

omega_base 1

omega_ktr	-0	1			
omega_ic50	-0.01	-0.01	1		
omega_gg	-0.02	-0.09	-0.02	1	
a	-0.04	-0.08	-0.04	-0.05	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.84 1.1 1.3

Estimation of the population parameters by groups

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)
gg_(t_LAP=750 *) :	0.312	0.062	20
gg_(t_LAP=1000) :	0.245	0.022	9

Categorical covariates

t_LAP

Reference group: 750

Other groups: 1000

1000= ["1000", "1250"]

Elapsed time is 2.28e+003 seconds.

CPU time is 8.39e+003 seconds.

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	1497.24
Akaike Information Criteria (AIC):	1521.24
Bayesian Information Criteria (BIC):	1537.65

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling

Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	1500.48	(1.4)
Akaike Information Criteria (AIC):	1524.48	(1.4)
Bayesian Information Criteria (BIC):	1540.89	(1.4)

PN_3tr_PKFINAL-PN9-lap-cov.mat

* November 28, 2011 at 18:51:22

Estimation of the population parameters

	parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)	p-value
base	: 3.5	0.19	5	
ktr	: 0.604	0.079	13	
beta_ktr(LAP)	: 0.000173	0.00013	74	0.18
Emx	: 1	-	-	
ic50	: 0.0433	0.0063	15	
gg	: 0.613	0.28	46	
beta_gg(LAP)	: -0.000948	0.00044	46	0.031
ktr_csf	: 0.997	0.0004	0	
gg_csf	: 1.3	0.054	4	
omega_base	: 0.253	0.041	16	
omega_ktr	: 0.0306	0.019	63	
omega_Emx	: 0	-	-	
omega_ic50	: 0.598	0.12	21	
omega_gg	: 0.244	0.06	24	
omega_ktr_csf	: 0	-	-	
omega_gg_csf	: 0	-	-	
a	: 0.944	0.032	3	

correlation matrix of the estimates(linearization)

base	1							
ktr	0.04	1						
beta_ktr(LAP)	-0.03	-0.99	1					
ic50	-0.12	-0.06	0.06	1				
gg	-0.03	-0.4	0.39	0.07	1			
beta_gg(LAP)	0	0.4	-0.39	-0.09	-0.99	1		
ktr_csf	-0.04	0.02	-0.01	-0.01	-0.02	0.03	1	
gg_csf	0.04	0.05	-0.08	-0.04	0.01	-0.02	-0.75	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.0061 2.8 4.6e+002

omega_base	1				
omega_ktr	-0	1			
omega_ic50	-0.02	-0.02	1		
omega_gg	-0.03	-0.08	-0.03	1	
a	-0.04	-0.08	-0.07	-0.06	1

Eigenvalues (min, max, max/min): 0.81 1.1 1.4

Numerical covariates

LAP

Elapsed time is 2.42e+003 seconds.

CPU time is 8.92e+003 seconds.

Log-likelihood Estimation by linearization

-2 x log-likelihood:	1535.62
Akaike Information Criteria (AIC):	1561.62
Bayesian Information Criteria (BIC):	1579.40

Log-likelihood Estimation by Importance Sampling

Sampling distribution for the random effects: t with 5 d.f

-2 x log-likelihood:	1546.20	(0.25)
Akaike Information Criteria (AIC):	1572.20	(0.25)
Bayesian Information Criteria (BIC):	1589.97	(0.25)

**Annexe 17 la comparaison des résultats cliniques pour chaque palier de dose de lapatinib par
le test de Fisher**

RESP			
LAP	PD	PR	SD
750	2	1	0
1000	3	5	7
1250	3	4	1
> fisher.test(x)			
Fisher's Exact Test for Count Data			
data: x			
p-value = 0.2762			
alternative hypothesis: two.sided			
> x<-table(subset(dd,LAP!=1250)			
+)			
> x			
RESP			
LAP	PD	PR	SD
750	2	1	0
1000	3	5	7
> fisher.test(x)			
Fisher's Exact Test for Count Data			
data: x			
p-value = 0.1532			
alternative hypothesis: two.sided			

RÉFÉRENCES

1. Evans WE, Relling MV, Rodman JH et al. Conventional compared with individualized chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1998; 338: 499-505.
2. Jodrell DI, Egorin MJ, Canetta RM et al. Relationships between carboplatin exposure and tumor response and toxicity in patients with ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1992; 10: 520-528.
3. Kastrissios H, Ratain MJ. Screening for sources of interindividual pharmacokinetic variability in anticancer drug therapy: utility of population analysis. *Cancer Invest* 2001; 19: 57-64.
4. Lancelot R, Lesnoff M. Sélection des modèles avec l'AIC et critères d'informations dérivés. Cirad, Montpellier. Cirad 2005; 10: 1-7.
5. Felici A, Verweij J, Sparreboom A. Dosing strategies for anticancer drugs: the good, the bad and body-surface area. *Eur J Cancer* 2002; 38: 1677-1684.
6. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 48-58.
7. Wrighton SA, VandenBranden M, Ring BJ. The human drug metabolizing cytochromes P450. *J Pharmacokinet Biopharm* 1996; 24: 461-473.
8. Canal P, Chatelut E. [Dose optimization in clinical oncology: pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship]. *Bull Cancer* 1996; 83: 256-265.
9. Scripture CD, Figg WD. Drug interactions in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 546-558.
10. Noble RL. The discovery of the vinca alkaloids--chemotherapeutic agents against cancer. *Biochem Cell Biol* 1990; 68: 1344-1351.
11. Leveque D, Wihlm J, Jehl F. [Pharmacology of Catharanthus alkaloids]. *Bull Cancer* 1996; 83: 176-186.
12. Johnson JS, Armstrong JG, GORMAN M, Burnett JP. The vinca alkaloids: a new class of oncolytic agents. *Cancer Res* 1963; 23: 1390-1427.
13. Sweeney MJ, Boder GB, Cullinan GJ et al. Antitumor activity of deacetyl vinblastine amide sulfate (vindesine) in rodents and mitotic accumulation studies in culture. *Cancer Res* 1978; 38: 2886-2891.
14. Gueritte F, Pouilhe A, Mangeney P et al. Synthesis of navelbine analogs. *Eur J Med Chem* 1983; 10: 419-424.

15. Delozier T, Guastalla JP, Yovine A et al. A phase II study of an oxaliplatin/vinorelbine/5-fluorouracil combination in patients with anthracycline-pretreated and taxane-pretreated metastatic breast cancer. *Anticancer Drugs* 2006; 17: 1067-1073.
16. Bennouna J, Delord JP, Campone M, Nguyen L. Vinflunine: a new microtubule inhibitor agent. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1625-1632.
17. Binet S, Fellous A, Lataste H et al. In situ analysis of the action of Navelbine on various types of microtubules using immunofluorescence. *Semin Oncol* 1989; 16: 5-8.
18. Fellous A, Luduena RF, Prasad V et al. Effects of Tau and MAP2 on the interaction of maytansine with tubulin: inhibitory effect of maytansine on vinblastine-induced aggregation of tubulin. *Cancer Res* 1985; 45: 5004-5010.
19. Besenval M, Delgado M, Demarez JP, Krikorian A. Safety and tolerance of Navelbine in phase I-II clinical studies. *Semin Oncol* 1989; 16: 37-40.
20. HAS: fiche Navelbine. [Http://has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/bat_fiche_navelvine.pdd](http://has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/bat_fiche_navelvine.pdd).: 2011.
21. Nelson RL, Dyke RW, Root MA. Comparative pharmacokinetics of vindesine, vincristine and vinblastine in patients with cancer. *Cancer Treat Rev* 1980; 7 Suppl 1: 17-24.
22. Rahmani R, Bruno R, Iliadis A et al. Clinical pharmacokinetics of the antitumor drug navelbine (5'-noranhydrovinblastine). *Cancer Res* 1987; 47: 5796-5799.
23. Jehl F, Quoix E, Leveque D et al. Pharmacokinetic and preliminary metabolic fate of navelbine in humans as determined by high performance liquid chromatography. *Cancer Res* 1991; 51: 2073-2076.
24. Khayat D, Rixe O, Brunet R et al. Pharmacokinetic linearity of i.v. vinorelbine from an intra-patient dose escalation study design. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004; 54: 193-205.
25. Sabot C, Marquet P, Debord J et al. Bayesian pharmacokinetic estimation of vinorelbine in non-small-cell lung cancer patients. *Eur J Clin Pharmacol* 1998; 54: 171-175.
26. Gauvin A, Pinguet F, Culine S et al. Blood and plasma pharmacokinetics of vinorelbine in elderly patients with advanced metastatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49: 48-56.
27. Urien S, Bree F, Breillout F et al. Vinorelbine high-affinity binding to human platelets and lymphocytes: distribution in human blood. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993; 32: 231-234.
28. Leveque D, Jehl F. Clinical pharmacokinetics of vinorelbine. *Clin Pharmacokinet* 1996; 31: 184-197.

29. Marty M, Fumoleau P, Adenis A et al. Oral vinorelbine pharmacokinetics and absolute bioavailability study in patients with solid tumors. *Ann Oncol* 2001; 12: 1643-1649.
30. Beulz-Riche D, Grude P, Puozzo C et al. Characterization of human cytochrome P450 isoenzymes involved in the metabolism of vinorelbine. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19: 545-553.
31. Wroblewski B, Glenn MB. The cytochrome p-450 drug metabolizing enzyme system: an overview of potential clinically important drug interactions. *J Head Trauma Rehabil* 2002; 17: 571-574.
32. Kivisto KT, Kroemer HK, Eichelbaum M. The role of human cytochrome P450 enzymes in the metabolism of anticancer agents: implications for drug interactions. *Br J Clin Pharmacol* 1995; 40: 523-530.
33. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286: 487-491.
34. Cotreau MM, von Moltke LL, Greenblatt DJ. The influence of age and sex on the clearance of cytochrome P450 3A substrates. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44: 33-60.
35. Kajita J, Kuwabara T, Kobayashi H, Kobayashi S. CYP3A4 is mainly responsible for the metabolism of a new vinca alkaloid, vinorelbine, in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 1121-1127.
36. Adams DJ, Knick VC. P-glycoprotein mediated resistance to 5'-nor-anhydro-vinblastine (Navelbine). *Invest New Drugs* 1995; 13: 13-21.
37. Krikorian A, Rahmani R, Bromet M et al. Pharmacokinetics and metabolism of Navelbine. *Semin Oncol* 1989; 16: 21-25.
38. Nguyen L, Tranchand B, Puozzo C, Variol P. Population pharmacokinetics model and limited sampling strategy for intravenous vinorelbine derived from phase I clinical trials. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 53: 459-468.
39. Variol P, Nguyen L, Tranchand B, Puozzo C. A simultaneous oral/intravenous population pharmacokinetic model for vinorelbine. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; 58: 467-476.
40. Robieux I, Sorio R, Borsatti E et al. Pharmacokinetics of vinorelbine in patients with liver metastases. *Clin Pharmacol Ther* 1996; 59: 32-40.
41. Klapper LN, Kirschbaum MH, Sela M, Yarden Y. Biochemical and clinical implications of the ErbB/HER signaling network of growth factor receptors. *Adv Cancer Res* 2000; 77: 25-79.
42. Atalay G, Cardoso F, Awada A, Piccart MJ. Novel therapeutic strategies targeting the epidermal growth factor receptor (EGFR) family and its downstream effectors in breast cancer. *Ann Oncol* 2003; 14: 1346-1363.

43. Moy B, Goss PE. Lapatinib: current status and future directions in breast cancer. *Oncologist* 2006; 11: 1047-1057.
44. Janmaat ML, Giaccone G. Small-molecule epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Oncologist* 2003; 8: 576-586.
45. Nahta R, Yuan LX, Du Y, Esteva FJ. Lapatinib induces apoptosis in trastuzumab-resistant breast cancer cells: effects on insulin-like growth factor I signaling. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 667-674.
46. Geyer CE, Forster J, Lindquist D et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 2733-2743.
47. Assessment report for
tyverb.http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Public_assessment_report/human/000795/WC500044960.pdf].: 2011.
48. Xia W, Liu LH, Ho P, Spector NL. Truncated ErbB2 receptor (p95ErbB2) is regulated by heregulin through heterodimer formation with ErbB3 yet remains sensitive to the dual EGFR/ErbB2 kinase inhibitor GW572016. *Oncogene* 2004; 23: 646-653.
49. Moy B, Goss PE. Lapatinib-associated toxicity and practical management recommendations. *Oncologist* 2007; 12: 756-765.
50. Nelson MH, Dolder CR. Lapatinib: a novel dual tyrosine kinase inhibitor with activity in solid tumors. *Ann Pharmacother* 2006; 40: 261-269.
51. Smith DA, Koch KM, Arya N et al. Effects of ketoconazole and carbamazepine on lapatinib pharmacokinetics in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 2009; 67: 421-426.
52. Thiessen B, Stewart C, Tsao M et al. A phase I/II trial of GW572016 (lapatinib) in recurrent glioblastoma multiforme: clinical outcomes, pharmacokinetics and molecular correlation. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 65: 353-361.
53. Koch KM, Reddy NJ, Cohen RB et al. Effects of food on the relative bioavailability of lapatinib in cancer patients. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1191-1196.
54. Polli JW, Humphreys JE, Harmon KA et al. The role of efflux and uptake transporters in [N-{3-chloro-4-[(3-fluorobenzyl)oxy]phenyl}-6-[5-({[2-(methylsulfonyl)ethyl]amino }methyl)-2-furyl]-4-quinazolinamine (GW572016, lapatinib) disposition and drug interactions. *Drug Metab Dispos* 2008; 36: 695-701.
55. Castellino S, O'Mara MJ, Koch KM et al. Human Metabolism of Lapatinib, a Dual Kinase Inhibitor: Implications for Hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos* 2011.

56. Teng WC, Oh JW, New LS et al. Mechanism-based inactivation of cytochrome P450 3A4 by lapatinib. *Mol Pharmacol* 2010; 78: 693-703.
57. Parkinson A. An overview of current cytochrome P450 technology for assessing the safety and efficacy of new materials. *Toxicol Pathol* 1996; 24: 48-57.
58. Jones J, Takeda A, Picot J et al. Lapatinib for the treatment of HER2-overexpressing breast cancer. *Health Technol Assess* 2009; 13 Suppl 3: 1-6.
59. Nahta R, Esteva FJ. HER2 therapy: molecular mechanisms of trastuzumab resistance. *Breast Cancer Res* 2006; 8: 215.
60. Van Heugen JC, De Graeve J, Zorza G, Puozzo C. New sensitive liquid chromatography method coupled with tandem mass spectrometric detection for the clinical analysis of vinorelbine and its metabolites in blood, plasma, urine and faeces. *J Chromatogr A* 2001; 926: 11-20.
61. Bai F, Freeman BB, III, Fraga CH et al. Determination of lapatinib (GW572016) in human plasma by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006; 831: 169-175.
62. Sheiner LB. The population approach to pharmacokinetic data analysis: rationale and standard data analysis methods. *Drug Metab Rev* 1984; 15: 153-171.
63. Karlsson MO, Sheiner LB. The importance of modeling interoccasion variability in population pharmacokinetic analyses. *J Pharmacokinet Biopharm* 1993; 21: 735-750.
64. Kuhn E, Lavielle M. Maximum likelihood estimation in nonlinear mixed effects models. *Computational Statistics Data Analysis* 2005; 49: 1020-1030.
65. Lavielle M, Mentre F. Estimation of population pharmacokinetic parameters of saquinavir in HIV patients with the MONOLIX software. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2007; 34: 229-249.
66. Gauvin A, Pinguet F, Culine S et al. Bayesian estimate of vinorelbine pharmacokinetic parameters in elderly patients with advanced metastatic cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2690-2695.
67. Wong M, Balleine RL, Blair EY et al. Predictors of vinorelbine pharmacokinetics and pharmacodynamics in patients with cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2448-2455.
68. Ette EI, Ludden TM. Population pharmacokinetic modeling: the importance of informative graphics. *Pharm Res* 1995; 12: 1845-1855.

69. Comets E, Brendel K, Mentré F. Computing normalised prediction distribution errors to evaluate nonlinear mixed-effect models : the npde add-on package for R. *Comput Methods Prog Biomed* 2008; 90: 154-166.
70. Akaike H. A new look at statistacal model identification. *IEEE Transactions TAC* 1974; 19: 716-722.
71. De Baerdemaeker L, Mortier EP, Struys M. Pharmacokinetics in obese patients. *Critical Care Pain* 2004; 4: 152-157.
72. Yano Y, Beal SL, Sheiner LB. Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2001; 28: 171-192.
73. Friberg LE, Henningsson A, Maas H et al. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4713-4721.
74. Harrison DE, Lerner CP. Most primitive hematopoietic stem cells are stimulated to cycle rapidly after treatment with 5-fluorouracil. *Blood* 1991; 78: 1237-1240.
75. Testa NG, Tuddenham EG. The regulation of haematopoietic cell production. *Postgraduate Haematol* 1999; 4: 1-12.
76. Takatani H, Soda H, Fukuda M et al. Levels of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in serum are inversely correlated with circulating neutrophil counts. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 988-991.
77. Simeoni M, Magni P, Cammia C et al. Predictive pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth kinetics in xenograft models after administration of anticancer agents. *Cancer Res* 2004; 64: 1094-1101.
78. Claret L, Girard P, Hoff PM et al. Model-based prediction of phase III overall survival in colorectal cancer on the basis of phase II tumor dynamics. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4103-4108.
79. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45: 228-247.
80. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 205-216.
81. Rezai K, Urien S, Isambert N et al. Pharmacokinetic evaluation of the vinorelbine-lapatinib combination in the treatment of breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 1529-1536.

82. Rezai K, Isambert N, Brain E et al. GEP01: a phase pharmacokinetic study of lapatinib and iv vinorelbine in the treatment of HER2-positive locally advanced or metastatic breast cancer. Poster AACR 2011; 10: A850.
83. Rezai K, Lokiec F, Brain E et al. Population pharmacokinetic pharmacodynamic model for neutropenia and tumor shrinkage time course by vinorelbine-lapatinib combination in breast cancer patients. Clin Cancer Res 2011; Soumis: .
84. Undevia SD, Gomez-Abuin G, Ratain MJ. Pharmacokinetic variability of anticancer agents. Nat Rev Cancer 2005; 5: 447-458.
85. Ette EI, Williams PJ. Population pharmacokinetics I: background, concepts, and models. Ann Pharmacother 2004; 38: 1702-1706.
86. Samara E, Granneman R. Role of population pharmacokinetics in drug development. A pharmaceutical industry perspective. Clin Pharmacokinet 1997; 32: 294-303.
87. Brain E, Isambert N, Dalenc F et al. Phase 1 study of lapatinib plus vinorelbine with locally advanced or metastatic breast cancer overexpressing Her2. BJCO 2011; In press:
88. Urso R, Nencini C, Giorgi G, Fiaschi AI. Chemotherapy-induced myelosuppression by vinorelbine: a comparison between different dose schedules by simulation. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2007; 11: 413-417.
89. Kloft C, Siegert W, Jaehde U. Individualised dosing strategy for high-dose carboplatin in patients with germ cell cancer. Br J Cancer 2003; 89: 787-794.
90. Sandstrom M, Lindman H, Nygren P et al. Population analysis of the pharmacokinetics and the haematological toxicity of the fluorouracil-epirubicin-cyclophosphamide regimen in breast cancer patients. Cancer Chemother Pharmacol 2006; 58: 143-156.
91. Newell DR. Can pharmacokinetic and pharmacodynamic studies improve cancer chemotherapy ? Ann Oncol 1994; 5 suppl 4: S9-S15.

RÉSUMÉ

La mise en évidence de la variabilité pharmacocinétique et/ou pharmacodynamique permet l'optimisation de l'utilisation des cytotoxiques. L'association des thérapies ciblées à la chimiothérapie conventionnelle peut apporter des avantages supplémentaires en termes de bénéfice thérapeutique, mais aussi peut provoquer des interactions médicamenteuses et augmenter les variabilités interindividuelles. Les interactions médicamenteuses sont maintenant connues pour avoir un impact significatif sur l'élimination des médicaments.

Le premier volet de ces travaux consiste à mesurer les concentrations sanguines de deux molécules (le lapatinib et la vinorelbine) chez les patientes et à les utiliser pour la modélisation pharmacocinétique. Cette modélisation a clairement montré l'influence du poids et du nombre des plaquettes sur la pharmacocinétique de la vinorelbine permettant ainsi de diminuer les variabilités pharmacocinétiques. Elle a également mis en évidence l'influence du lapatinib sur la pharmacocinétique de la vinorelbine. Cependant, compte tenu de l'absence de groupe témoin, nous n'avons pas réussi à obtenir une significativité statistique pour ces résultats. En parallèle, aucune influence de la vinorelbine sur le comportement pharmacocinétique du lapatinib n'a été mise en évidence.

Le second volet concerne la modélisation de la réponse et de la tolérance des patientes pour cette association médicamenteuse (modélisation pharmacodynamique). La neutropénie est la toxicité dose-limitante et comme le lapatinib n'est pas connu pour être myélotoxique, nous avons modélisé cette toxicité par rapport au comportement pharmacocinétique de la vinorelbine. Là encore, nous avons observé une très forte tendance quant à l'influence du lapatinib sur la myélotoxicité de la vinorelbine. Concernant l'efficacité de cette association, la modélisation de l'évolution de la croissance tumorale a mis en évidence une synergie d'action entre ces deux molécules. A notre connaissance c'est la première fois qu'une telle modélisation tant du point de vue de la tolérance que de celui de la réponse, est réalisée lors d'une association de chimiothérapie classique et d'une thérapeutique ciblée.

La modélisation PK-PD de population des médicaments anticancéreux peut apporter une aide précieuse aux cliniciens dans ce domaine. Elle peut également être essentielle dans la prise de décision clinique précoce.

Mots Clés : Pharmacocinétique, Pharmacodynamie, Thérapie ciblée, Variabilités Interindividuelles, Modélisation.